BESTIMMUNG ZIRKULIERENDER IMMUNKOMPLEXE BEI PATIENTEN MIT PRIMÄR CHRONISCHER POLYARTHRITIS UND SYSTEMISCHEM LUPUS ERYTHEMATODES

Teil I: Untersuchung an Patienten mit primär chronischer Polyarthritis (S. Steffens)

Teil II: Untersuchung an Patienten mit systemischem Lupus erythematodes (M. Weber-Kupferschmitt)

Susanne Steffens
und
Marion Weber-Kupferschmitt

1983

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41523704_0035

Aus dem Zentrum der Inneren Medizin der Johann Wolfgang
Goethe-Universität in Frankfurt am Main
(Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. med. Schoeppe)
Abteilung für physikalisch-diätetische Therapie
(Direktor: Prof. Dr. med. K. Pirlet)

BESTIMMUNG ZIRKULIERENDER IMMUNKOMPLEXE BEI PATIENTEN MIT PRIMÄR CHRONISCHER POLYARTHRITIS UND SYSTEMISCHEM LUPUS ERYTHEMATODES

Teil I : Untersuchung an Patienten mit primär chronischer Polyarthritis (S. Steffens)

Teil II: Untersuchung an Patienten mit systemischem Lupus erythematodes (M. Weber-Kupferschmitt)

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin des Fachbereichs Humanmedizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

vorgelegt von
Susanne Steffens
aus Frankfurt am Main

und

Marion Weber-Kupferschmitt
aus Frankfurt am Main

Frankfurt am Main 1983

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Prof. Dr. H. J. Müller

Referent: Prof. Dr. K. Pirlet

Korreferent: Prof. Dr. J. Holzmann

Tag der mündlichen Prüfung: 18. Mai 1983

Aus dem Zentrum der Inneren Medizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt am Main
(Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. med. Schoeppe)
Abteilung für physikalisch-diätetische Therapie
(Direktor: Prof. Dr. med. K. Pirlet)

BESTIMMUNG ZIRKULIERENDER IMMUNKOMPLEXE BEI PATIENTEN MIT PRIMÄR CHRONISCHER POLYARTHRITIS UND SYSTEMISCHEM LUPUS ERYTHEMATODES

Teil I: Untersuchung an Patienten mit primär chronischer Polyarthritis

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin des Fachbereichs Humanmedizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

vorgelegt von
Susanne Steffens
aus Frankfurt am Main

Frankfurt am Main 1983

Aus dem Zentrum der Inneren Medizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt am Main
(Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. med. Schoeppe)
Abteilung für physikalisch-diätetische Therapie
(Direktor: Prof. Dr. med. K. Pirlet)

BESTIMMUNG ZIRKULIERENDER IMMUNKOMPLEXE BEI PATIENTEN MIT PRIMÄR CHRONISCHER POLYARTHRITIS UND SYSTEMISCHEM LUPUS ERYTHEMATODES

Teil II: Untersuchung an Patienten mit systemischem Lupus erythematodes

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin des Fachbereichs Humanmedizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

vorgelegt von
Marion Weber-Kupferschmitt
aus Frankfurt am Main

Frankfurt am Main 1983

Frau Susanne Steffens führte die Untersuchungen durch, die in Kapitel 3 beschrieben sind (Ergebnisse Teil I). Frau Marion Weber bearbeitete und formulierte Kapitel 4 (Ergebnisse Teil II).

Beide Teile wurden gemeinsam und zusammenhängend, in Verbindung mit Literaturzitaten, diskutiert.
Auch die einleitenden Kapitel und die Zusammenfassung wurden von beiden Autoren formuliert.

An dieser Stelle danken wir Herrn Professor Dr. med. K. Pirlet für die Überlassung des Themas und die freundliche Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.
Weiterhin gilt unser Dank Herrn Dr. med. H. Krippner für seine wertvollen Anregungen und Hinweise sowie Herrn Dr. med. S. Merle für seine hilfreichen Ratschläge bei der Abfassung dieser Dissertationsschrift.

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1.	EINLEITUNG	1
1.1	Immunkomplexe und ihre Bedeutung für die primär chronische Polyarthritis und den systemischen Lupus erythematodes	1
1.2	Nachweismethoden für Immunkomplexe im Serum	4
2.	MATERIAL UND METHODEN	8
2.1	Patienten	8
2.2	Methoden	13
2.2.1	Verfahren zur Immunkomplexbestimmung	13
2.2.1.1	PEG-Fällung	13
2.2.1.2	Kinetische Nephelometrie	13
2.2.1.3	Radiale Immundiffusion	16
2.2.2	Bestimmung bei SLE-Patienten	20
2.2.2.1	Millipore-Test	20
2.2.2.2	Weitere laborchemische Untersuchungen	21
2.2.3	Bestimmung bei pcP-Patienten	21
2.2.4	Statistik	21
3.	ERGEBNISSE TEIL I	22
3.1	Vergleich der radialen Immundiffusion mit der kinetischen Nephelometrie	22
3.2	Das Normalkollektiv	25
3.2.1	Standardisierung	25
3.2.2	Reproduzierbarkeit	28
3.3	Untersuchungen an pcP-Patienten	29
3.3.1	Gesamtergebnisse	29
3.3.2	Beziehung zwischen dem Immunkomplexspiegel und dem klinischen Bild	32
3.3.3	Untersuchung an Rheumafaktor-positiven und -negativen Patienten	35
3.3.4	Untersuchung anderer Erkrankungen aus dem rheumatischen Formenkreis	37
4.	ERGEBNISSE TEIL II	38
4.1	Immunkomplexbestimmung bei SLE-Patienten	38

Seite

4.2.	Vergleich der Immunkomplexe bei unterschiedlicher Aktivität des SLE	41
4.2.1	Vergleich der Parameter im Serum	41
4.2.2	Vergleich der Menge an zirkulierenden Immunkomplexen	43
4.3	Vergleich der Menge an zirkulierenden Immunkomplexen bei Patienten mit und ohne SLE-Nephritis	44
4.4	Änderungen des Immunkomplexspiegels im Verlauf der Erkrankung	46
4.4.1	Korrelation zwischen Laboruntersuchungen und klinischem Befund	46
4.4.2	Kasuistik	48
5.	DISKUSSION	53
6.	ZUSAMMENFASSUNG	61
7.	TABELLEN	63
8.	LITERATURVERZEICHNIS	73

Verzeichnis der Abkürzungen

AG	= Antigen
AK	= Antikörper
ARA	= American Rheumatism Association
BSG	= Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit
C (n)	= Komplementfaktor n
CIC	= zirkulierende Immunkomplexe
dAT	= synthetische doppelsträngige DNS
DNS	= Desoxyribonucleinsäure
dsDNS	= doppelsträngige DNS
GN	= Glomerulonephritis
IC	= Immunkomplex(e)
Ig	= Immunglobulin
MCTD	= Mischkollagenose
MG	= Molekulargewicht
n	= Anzahl
NB	= Normalbereich
Neph	= Nephelometrie
n.W.	= nach Westergren
O.D.	= optische Dichte
p	= Irrtumswahrscheinlichkeit
PBS	= physiologische Phosphatpuffersalzlösung
pcP	= primär chronische Polyarthritis
PEG	= Polyäthylenglykol
r	= Korrelationskoeffizient
RF	= Rheumafaktor
RID	= radiale Immundiffusion
RID.mod.	= modifizierte RID
S	= Sedimentationskonstante
s	= Standardabweichung
SLE	= systemischer Lupus erythematodes
SSC	= Saline Sodium Citrate
WHO	= Weltgesundheitsorganisation
w/v	= Gewicht/Volumen
$\bar{x}$	= Mittelwert

1. Einleitung

1.1 Immunkomplexe und ihre Bedeutung für die primär chronische Polyarthritis und den systemischen Lupus erythematodes

Die primär chronische Polyarthritis und der systemische Lupus erythematodes werden heute zu den Autoimmunerkrankungen gezählt. Bei diesen Erkrankungen werden Antikörper gegen körpereigene Substanzen gebildet und verbinden sich mit ihnen zu Immunkomplexen.
Immunkomplexe (IC) ganz allgemein entstehen - in vivo wie in vitro - durch Bindung eines spezifischen Antikörpers (AK) an ein Antigen (AG). Das Antigen kann ein normaler oder krankhaft veränderter Körperbestandteil sein, es kann auch von außen zugeführt werden (z. B. ein körperfremdes Protein oder ein infektiöser Mikroorganismus wie das Hepatitis-B-Virus). Als Antikörper kommen grundsätzlich alle bekannten Immunglobulinklassen in Frage, also IgG, IgM, IgA, IgD und IgE. Besteht der AK-Teil eines Immunkomplexes aus IgG oder IgM, kann der Komplementfaktor C1q an Rezeptoren der Moleküle gebunden und somit auf dem klassischen Reaktionsweg Komplement aktiviert werden. Bei dieser Aktivierung werden entzündungsfördernde Fragmente abgespalten; unter Einbeziehung des vollständigen Komplementsystems kommt es zur Membranschädigung und Lyse von Zellen.

Die Größe der gebildeten Immunkomplexe ist unterschiedlich: Zum einen hängt sie von der Anzahl der Antikörperbindungsstellen des jeweiligen Antigens ab, zum anderen vom quantitativen Verhältnis von Antigenen und Antikörpern. Liegt dieses Verhältnis im Äquivalenzbereich, entstehen durch starke Vernetzung große bis sehr große Immunkomplexe mit einer Sedimentationsrate > 19 S. Sind hingegen AG oder AK im Überschuß vorhanden, werden hauptsächlich kleine IC gebildet (Sedimentationsrate < 19 S). Abbildung 1 zeigt diesen Zusammenhang.

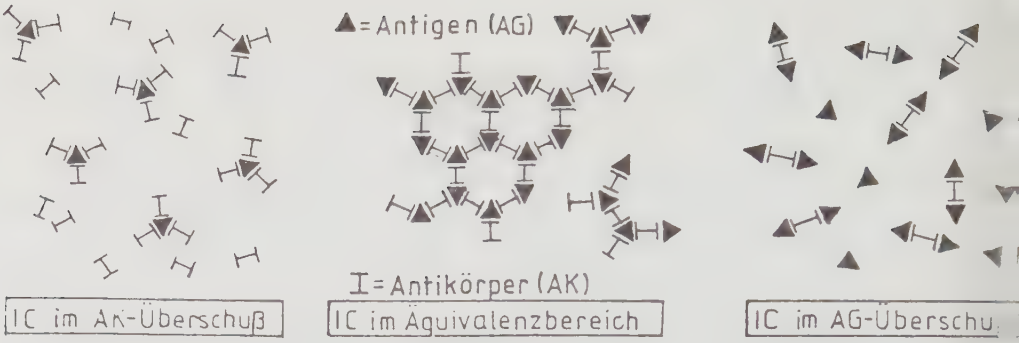


Abb. 1 Zusammenhang zwischen Immunkomplexgröße und quantitativem Verhältnis von Antigen und Antikörper

Physiologischerweise werden die zirkulierenden IC bei ihrer Passage durch das retikulo-endotheliale System von Makrophagen gebunden und phagozytiert - große, vernetzte IC innerhalb weniger Minuten, kleine langsamer (25). Ist die Kapazität des retikulo-endothelialen Systems aber durch große Mengen anflutender IC überfordert, können sich diese im Gewebe ablagern und dort zu Läsionen führen (wiederum die hochmolekularen stärker als die kleineren, weshalb deren schnellere Elimination als sinnvoller Schutzmechanismus erscheint).
Von der Ablagerung werden in erster Linie die Gefäßwände selbst und die Glomerula betroffen. Wie experimentell nachgewiesen wurde (11), können Blutplättchen nach Interaktion mit Immunkomplexen Histamin und Serotonin freisetzen - diese vasoaktiven Amine bewirken ein Auseinanderrücken der Endothelzellen, und in die entstehenden Lücken werden IC "eingeklemmt". Falls jetzt auch noch das Komplementsystem aktiviert wird, kann die Gefäßwand gleich auf zwei Wegen geschädigt werden: einmal durch die komplementvermittelte Entzündungsreaktion, zum anderen durch die davon angelockten polymorphkernigen neutrophilen Zellen, die zwar die IC phagozytieren, aber auch ihre lysosomalen Granula an dieser Stelle entleeren.
Die möglichen klinischen Folgen zirkulierender Immunkomplexe

wurden erstmals zu Beginn dieses Jahrhunderts beobachtet. VON PIRQUET und SCHICK beschrieben (47), daß nach Injektion von Pferde-Antidiphterieserum manchmal binnen 8 bis 13 Tagen eine Serumkrankheit auftrat - die Patienten bekamen Fieber, Gelenkschmerzen, Hautausschläge, dazu Lymphknotenschwellungen, Leukopenie und Albuminurie. VON PIRQUET und SCHICK vermuteten, daß die Patienten Antikörper gegen Pferdeprotein gebildet hatten, die sich mit dem Antigen verbanden und in dieser Form verschiedene Gewebe schädigten.
Diese Annahme wurde später bestätigt (16,17). Es gelang, die Serumkrankheit im Tierversuch zu erzeugen. Die Injektion artfremden Proteins führte bei Kaninchen zur Produktion spezifischer Antikörper und zur Bildung von IC; ebenfalls nach 8 bis 12 Tagen entwickelten sich Arthritis, Glomerulonephritis, Arteriitis und Karditis. In den betroffenen Geweben gelang der immunfluoreszentische Nachweis von Antigen, IgG, IgM und Komplementfaktor C3 dicht bei multiplen entzündlichen Läsionen. Offenbar hatten sich dort Immunkomplexe abgelagert, die unter Aktivierung des Komplementsystems zytotoxische Reaktionen ausgelöst hatten.
Beim histologischen Vergleich dieser experimentell durch AG-Zufuhr erzeugten Schäden mit solchen, die bei bestimmten menschlichen Bindegewebskrankheiten auftreten, konnte eine weitgehende Ähnlichkeit aufgezeigt werden, z.B. zwischen der IC-verursachten Glomerulonephritis bei Kaninchen und einer Form der Glomerulonephritis bei Patienten mit systemischem Lupus erythematodes (SLE). Auf diese Beobachtungen gestützt vermuteten DIXON et al. (17), daß bei diesen Erkrankungen, insbesondere beim SLE, der Bildung und Ablagerung von IC im Gewebe pathogenetische Bedeutung zukommen könnte. Inzwischen haben zahlreiche Untersuchungen diese Annahme bestätigt: Sowohl in Gefäßwänden und Glomerula von SLE-Kranken als auch in befallenen Gelenken und Rheumaknoten von Patienten mit primär chronischer Polyarthritis (pcP) wurden Immunkomplexe nachgewiesen (11,18,19,37,59,61). Auch im Serum von Patienten mit Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises, Hepatitis, verschiedenen intestinalen und anderen Erkrankungen gelang

der Nachweis von zirkulierenden Immunkomplexen (CIC). Die Bedeutung solcher CIC für die Pathogenese dieser Erkrankungen und ihre Beziehung zum klinischen Befund ist noch nicht endgültig geklärt. In dieser Arbeit sollen daher die CIC im Serum von Patienten mit verschiedenen Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises gemessen und mit den IC-Spiegeln gesunder Personen verglichen werden. Weiterhin soll untersucht werden, ob eine Beziehung zwischen klinischem Schweregrad von SLE bzw. pcP und der Menge an zirkulierenden Immunkomplexen besteht. Als letztes soll der IC-Spiegel anhand von Verlaufsbeobachtungen über einen längeren Zeitraum mit dem klinischen Befund korreliert werden.

1.2 Nachweismethoden für Immunkomplexe im Serum

Der quantitative Nachweis von löslichen IC im Serum ist bisher noch nicht zufriedenstellend gelöst - darauf deutet die große Anzahl der angewandten Bestimmungsmethoden hin, die sich jedes Jahr noch vergrößert. Sämtliche Bestimmungsmethoden basieren auf den unterschiedlichen physikalischen oder biologischen Eigenschaften von komplexgebundenen und freien Immunglobulinen:

I. Bestimmungsmethoden, die auf der Änderung physikalischer Eigenschaften beruhen
- Bestimmung aufgrund des hohen Molekulargewichts
  a) Analytische Ultrazentrifugation (39)
  b) Präparative Trennung durch Gel-, Ultra- und Immunofiltration (57,58)
- Bestimmung aufgrund des charakteristischen Lösungsverhaltens
  a) Kryopräzipitation (7, 13)
  b) PEG-Test (14,15)

II. Bestimmungsmethoden, die auf den biologischen Eigenschaften von IC beruhen
- Erkennung von IC in zellfreien Systemen

a) Interaktion mit Komplement
- C1q-deviation test (52)
- C1q-inhibition assay (23)
- C1q agarose precipitation test (2)
- C1q-binding test (fluid phase) (46)
- C1q-binding test (solid phase) (30)

b) Interaktion mit Immunokonglutinin (8, 20)

c) Interaktion mit Antiglobulin (Rheumafaktor) (5, 59)

- Erkennung von IC durch Rezeptoren an Zelloberflächen

a) Interaktion mit Fc-Rezeptoren
- Plättchenaggregationstest (44)
- Protein A Test (26)

b) Interaktion mit Komplementrezeptoren
- Raji-Zelltest (54)

Der größte Teil dieser Methoden ist entweder so zeit- oder materialaufwendig, daß eine Anwendung im größeren Maßstab, etwa in der Routine-Labordiagnostik, nicht in Frage kommt, oder sie sind störanfällig gerade für Seren mit hohem Gehalt an Rheumafaktor, bei denen die IC-Bestimmung besonders sinnvoll erscheint. Die biologischen Tests sind zudem schlecht standardisierbar und erschweren dadurch einen Vergleich der Befunde.
In dieser Arbeit diente die Fällung mit PEG der Bestimmung von Immunkomplexen im Serum. Polyäthylenglykol ist ein synthetisches lineares Polysaccharid, das zur Präzipitation von in vivo und in vitro gebildeten Antigen-Antikörper-Verbindungen verwendet werden kann (29,32,48, 60), wie auch Dextran und Polylysin (31). Ähnlich wie Ammoniumsulfat im klassischen Farr-assay (21) fällt PEG in bestimmter Konzentration Immunkomplexe aus, während freie Antigene und Antikörper in Lösung bleiben. Die Möglichkeiten des Farr-assays sind allerdings dadurch limitiert, daß bei den erforderlichen hohen Ammoniumsulfatkonzentrationen von 50 % (w/v) manche AG und AK bereits einzeln ausfallen. Demgegenüber liegt die zur Präzipitation von IC nötige

Konzentration einer PEG-Lösung niedriger und kann so variiert werden, daß dabei alle freien AG und AK noch ganz oder zum überwiegenden Teil löslich sind: In 20% (w/v) PEG fallen sowohl alle komplexgebundenen als auch 80% der freien Immunglobuline aus, in 3,5% PEG hingegen finden sich fast keine freien, aber immer noch alle in IC enthaltenen Immunglobuline im Präzipitat (14).
Auch andere Serumbestandteile werden durch PEG ausgefällt. Abhängig von der Konzentration lassen sich im Präzipitat α_2-Makro-, α_2-Lipo-, β-Lipoprotein und Fibrinogen nachweisen (32,62). Dabei ist die Präzipitierbarkeit eines Proteins offenbar eng mit dem Molekulargewicht verknüpft - je kleiner das Molekül, um so höher ist die PEG-Konzentration, ab der es auszufallen beginnt (9, 48,62). Allerdings sind auch zwei Ausnahmen von dieser Regel beobachtet worden. IgM und α_2-Makroglobulin werden in niedrig konzentrierten PEG-Lösungen weniger stark präzipitiert, als bei ihrem hohen Molekulargewicht anzunehmen wäre (15,62).
Der exakte Mechanismus, durch den Polyäthylenglykol Proteine reversibel präzipitiert, ist bisher noch ungeklärt. Folgende Hypothesen sind hierzu aufgestellt worden:

1.) Das Polymer maskiert die Oberflächeneigenschaften der Proteinmoleküle, so daß deren Löslichkeit herabgesetzt wird (3).
2.) "Sterische Exklusion": Das Polymer beansprucht ein bestimmtes Volumen der Lösung, wodurch sie übersättigt wird und Proteine ausfallen (31,41).

Zusätzlich vermuten HARRINGTON und DIGEON (15,29), daß Konformationsänderungen der komplexgebundenen Immunglobuline zu einer Verbesserung ihrer Präzipitierbarkeit führen.

Zur Quantifizierung der im PEG-Präzipitat enthaltenen IC wurden bisher folgende Methoden verwendet:

a) Gesamtproteinbestimmung durch Messung der optischen Dichte im Spektralphotometer bei 280nm (15,49)
Da weder die PEG-Fällung noch die photometrische Protein-

bestimmung spezifisch für IC ist, können andere präzipitierte Serumbestandteile (z. B. Lipoproteine) das Ergebnis verfälschen.

b) Bestimmung des gefällten IgG durch radiale Immundiffusion als "marker" für IC (4)
Mit dieser Methode werden nur IC erfaßt, die IgG als Antikörper oder Antigen enthalten.

c) Zusatz von radioaktiv markiertem C1q zu IC-haltigem Serum und Bestimmung der Aktivität im PEG-Präzipitat (45,64)
Immunkomplexe, die kein Komplement binden, werden auf diese Art nicht mitbestimmt. Wegen des großen Aufwands eignet sich die Methode nicht für die Routinediagnostik.

d) Radioaktive Markierung von AG oder AK und Messung der Aktivität im PEG-Präzipitat (14)
Dieses ebenfalls aufwendige Verfahren eignet sich nur für die Bestimmung von in vitro gebildeten Immunkomplexen mit bekannter Zusammensetzung.

e) Messung von IgG, IgM, IgA, C3 und C4 im PEG-Präzipitat mittels RID (10)
Alle Immunkomplexe, die mindestens einen dieser Bestandteile enthalten, werden erfaßt, daneben können allerdings freie Immunglobuline und Komplementfaktoren das Ergebnis beeinflussen.

In dieser Arbeit wurde die letztgenannte Methode angewandt, da sie wegen des relativ geringen Anteils freier Immunglobuline, die in 4 % PEG ausgefällt werden, doch recht spezifisch Immunkomplexe mißt - zudem wurde dieser Anteil empirisch bestimmt und somit eliminiert. Die Proteine wurden jedoch nicht durch radiale Immundiffusion, sondern mittels der kinetischen Nephelometrie quantifiziert: Bei dieser Methode sind die Ergebnisse schnell und zuverlässig zu erhalten, wodurch sie zu Reihenuntersuchungen besonders geeignet erscheint.

2. Material und Methoden

2.1 Patienten

Es wurden Immunkomplexbestimmungen im Serum von 131 Probanden durchgeführt. Davon waren 40 freiwillige, gesunde Blutspender, 35 Patienten mit SLE und 20 Patienten mit pcP. Außerdem konnten noch 32 Patienten mit verschiedenen Krankheiten des rheumatischen Formenkreises untersucht werden (Tab. 1). In Abbildung 2 ist die Alters- und Geschlechtsverteilung der Patienten dargestellt.
Die Patienten mit SLE wiesen mehr als 4 der entsprechenden ARA-Kriterien auf (Tab. 2) (12). Die an pcP erkrankten Patienten erfüllten 5 bzw. 7 der 11 ARA-Kriterien (Tab. 3) (43). Das entspricht der Diagnose einer "sicheren" bzw. "klassischen" pcP.

Krankheit	Anzahl der Patienten
SLE	35
"sichere" oder "klassische" pcP	20
Verdacht auf SLE	2
Verdacht auf pcP	9
Arthritiden	6
Arthrosen	4
MCTD	1
Morbus Bechterew	2
Morbus Reiter	2
palindromer Rheumatismus	1
Sjögren-Syndrom	2
Vaskulitiden	3

Tab. 1 Anzahl der untersuchten Patienten mit rheumatischen Erkrankungen

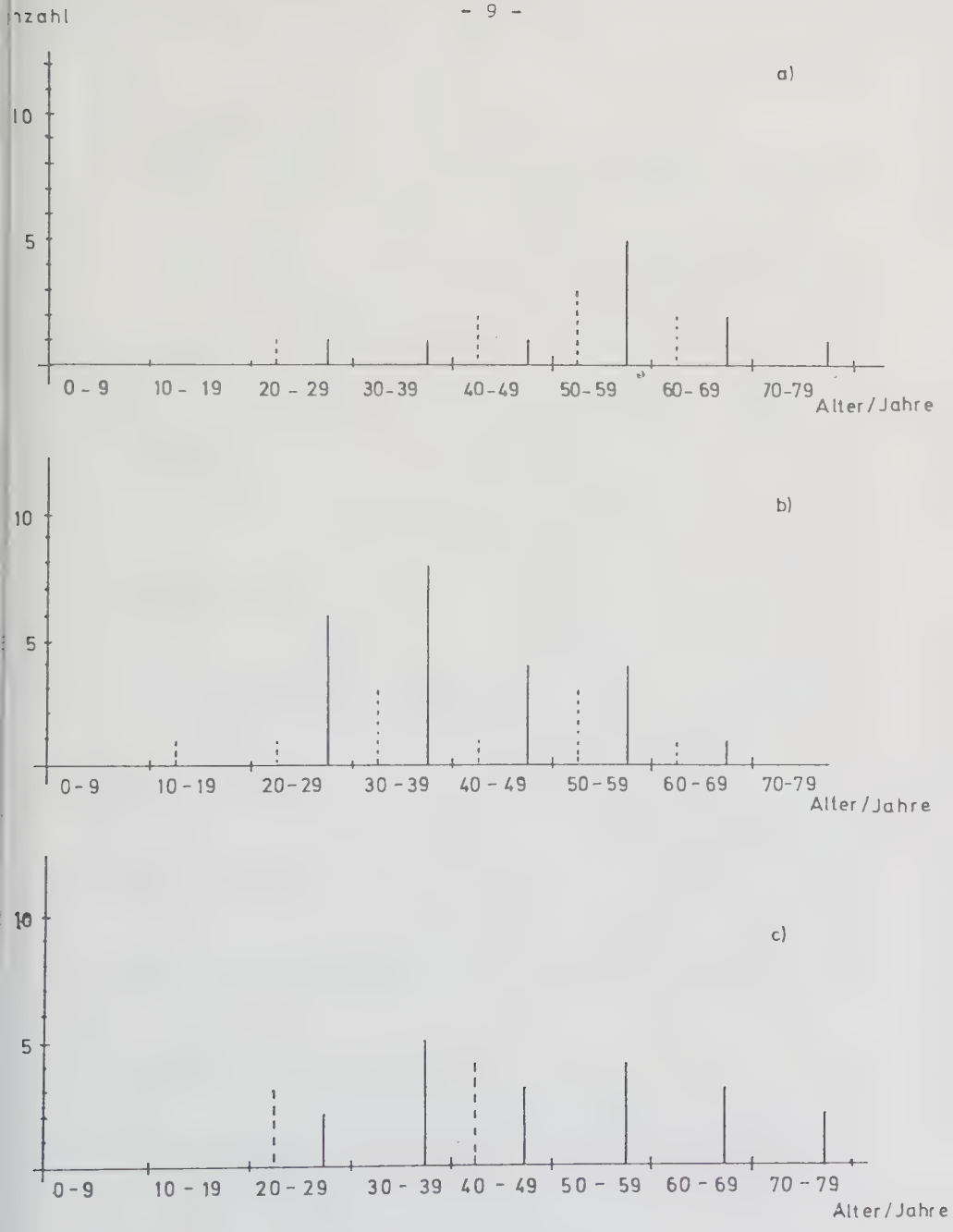


Abb. 2 Alters- und Geschlechtsverteilung bei
a) pcP-Kranken b) SLE-Patienten c) Patienten mit verschiedenen Krankheiten männlich ------ weiblich ——

1. Schmetterlingserythem
2. Diskoider Lupus
3. Raynauld'sches Phänomen
4. Rezidivierende Alopezie
5. Photosensibilität
6. Ulzerationen im Mund-, Nasen- und Rachenbereich
7. Arthritis ohne Deformität
8. Nachweis von LE-Zellen bzw. antinukleären Antikörpern
9. chronisch falsch positive Syphilisreaktion
10. Proteinurie 3,5 g pro Tag
11. Granulierte Zylinder im Urin und/oder histologisch gesicherte Glomerulonephritis
12. Pleuritis oder Perikarditis
13. Neurologische Symptome
14. Hämolytische Anämie oder Leukopenie (< 4000 Zellen/mm^2) oder Thrombozytopenie

Tab. 2 Diagnostische Kriterien zur Klassifizierung des SLE (American Rheumatism Association, 1971) (12)

1. Morgensteifigkeit
2. Bewegungsschmerz oder Bewegungsempfindlichkeit mindestens eines Gelenkes
3. Schwellung eines Gelenkes
4. Schwellung eines weiteren Gelenkes
5. Gleichzeitige symmetrische Gelenkschwellungen auf beiden Körperhälften
6. Subkutane Knoten über Knochenvorsprüngen, auf den Streckseiten oder in Gelenknähe
7. Typische röntgenologische Veränderungen
8. Positiver Rheumafaktor-Agglutinationstest
9. Schwaches Muzinpräzipitat in der Synovialflüssigkeit
10. Charakteristische histologische Veränderungen der

Synovialmembran

11. Charakteristische histologische Veränderungen in Rheumaknoten

Tab. 3 Diagnostische Kriterien für die primär chronische Polyarthritis (American Rheumatism Association,1958) (43

Zur Auswertung der Ergebnisse war es nötig, die Patienten in verschiedene Gruppen einzuteilen. Diese sind im Folgenden dargestellt:

I. Einteilung der pcP-Patienten
   a) nach Laborparametern in
      - Rheumafaktor-positive
      - Rheumafaktor-negative
   b) nach klinischen Gesichtspunkten in Patienten mit
      - aktiver pcP
      - inaktiver pcP

Als Zeichen einer aktiven pcP galt das Auftreten eines der folgenden Kriterien:
- mäßige bis starke Schwellung von 3 oder mehr Gelenken
- Ruhe- bzw. Bewegungsschmerz an 6 oder mehr Gelenken
- Morgensteifigkeit länger als 30 min
- BSG > 25 mm n. W. (1. h)
- deutliche klinische Progression bzw. keine Besserung (nach ärztlichem Urteil)

II. Einteilung der SLE-Patienten
   nach klinischen Gesichtspunkten in Patienten mit
   - aktivem
   - mäßig aktivem
   - inaktivem SLE

Die Krankheitsaktivität wurde anhand der folgenden Aufstellung nach KALDEN (35) bewertet:

Index	0	1	2	3
Subjektives Befinden	gut	mäßig	schlecht	sehr schlecht
vorhandene ARA-Krit.	0	1 - 2	3 - 4	4
BSG, 1. h	0 - 20	21 - 40	41 - 70	70
ärztliches Urteil	inaktiv	mäßig akt.	aktiv	hochaktiv

Für jeden Patienten wurde der Index errechnet, das ärztliche Urteil zählte doppelt. Dabei bedeutet die Indexsumme

0 - 2 inaktives
4 - 6 mäßig aktives
8 - 10 aktives Krankheitsgeschehen.

Lag der errechnete Wert bei 3 bzw. 7, gab das ärztliche Urteil den Ausschlag, ob der Patient der inaktiven oder mäßig aktiven bzw. der mäßig aktiven oder aktiven Gruppe zugeordnet wurde. Ein hochaktiver SLE lag in keinem der untersuchten Fälle vor.

2.2 Methoden

2.2.1 Verfahren zur Immunkomplexbestimmung

2.2.1.1 PEG-Fällung

Material:

Polyäthylenglykol 6000 der Firma Merck
Puffersubstanz PM 16 für physiologische Kochsalzlösung (PBS), pH 7,2, Firma Serva

Wegen der unkomplizierten Anwendbarkeit und guten Reproduzierbarkeit eignet sich für die Isolierung der Immunkomplexe die Fällung mit PEG, die folgendermaßen ausgeführt wurde:
1 ml Serum + 1 ml PEG in PBS (Endkonzentration 4 %) wurden 1 h bei 4° C inkubiert, dann 1 h bei 4000 U/min. zentrifugiert (G50K-Zentrifuge WKF), mit 2 ml 4 % PEG gewaschen und nochmals 1 h zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und das Präzipitat über Nacht in 1 ml PBS gelöst. Da eine alleinige Gesamtproteinbestimmung dieser Lösung (im weiteren kurz "Präzipitat" genannt) zu ungenau ist - es werden z.B. Lipoproteine mitgemessen -, wurden folgende Methoden zur Immunkomplexbestimmung angewendet.

2.2.1.2 Kinetische Nephelometrie (36,53,55)

Material:

Testkits für IgG, IgM, IgA, C3 und C4 der Firma Beckman für das Immunchemiesystem

Der quantitative Nachweis der Immunglobuline IgG, IgM, IgA, und der Komplementfaktoren C3 und C4 im Serum und im Präzipitat wurde mittels der kinetischen Nephelometrie mit einem Nephelometer der Firma Beckman geführt. Bei dieser Methode läuft eine Antigen-Antikörper-Reaktion in einem Puffer ab, dem ein Reaktionsbeschleuniger zugesetzt ist. Die durch die Reaktion im Testansatz hervorgerufene

Trübung wird mittels Lichtstreuung gemessen. Die Trübung nimmt dabei entsprechend der AG-AK-Reaktion zu (Abb. 3). Beim Verfahren der kinetischen Nephelometrie wird die Geschwindigkeit der Streulichtzunahme erfaßt und ausgewertet. Abbildung 4 zeigt den Verlauf der Streulichtzunahmegeschwindigkeit über der Zeitachse (Ableitung der obigen Kurve). Bei konstanter AK-Konzentration ist die Konzentration der Antigene der Parameter für das Kurvenmaximum. Der Zusammenhang zwischen der AG-Konzentration und dem Kurvenmaximum ist dabei direkt proportional. Allerdings steigt die Streulichtzunahmegeschwindigkeit bei zunehmender AG-Konzentration nur bis zum Äquivalenzpunkt von Antikörpern und Antigenen, danach sinkt sie wieder, da die Reaktionen langsamer ablaufen (Abb. 5). Deshalb können jeder maximalen Geschwindigkeit zwei verschiedene AG-Konzentrationen zugeordnet werden. Um falsche Ergebnisse zu vermeiden, ermittelt ein im Gerät eingebauter Rechner alle zweifelhaften Resultate und verlangt dann weitere Zugabe von Antigen. Liegt noch Antikörperüberschuß vor, steigt das Streulichtsignal daraufhin an, das heißt, das Meßergebnis liegt im relevanten Bereich. Erfolgt indes kein oder nur ein geringer Anstieg, muß die Analyse mit einer neuen Verdünnung wiederholt werden, die in einem geeigneten Meßbereich liegt.

In den folgenden Versuchen entsprechen die Immunglobuline und Komplementfaktoren dem Antigen, während das Testantiserum der Firma Beckman Antikörpereigenschaften vertritt. Vor jeder Meßreihe wurde das Gerät mit einem Kalibrationsserum (Standard Human Serum) geeicht.

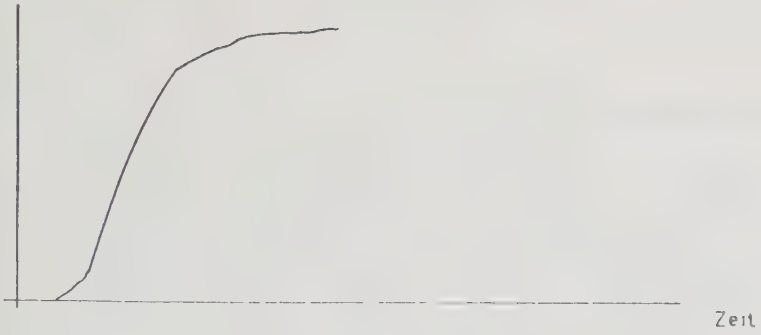


Abb. 3 zeitlicher Verlauf der Trübungszunahme

Abb. 4 zeitlicher Verlauf der Streulichtzunahmegeschwindigkeit

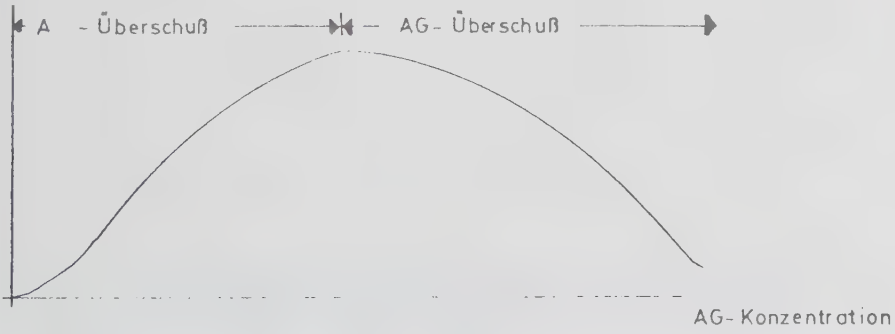


Abb 5 Konzentrationsabhängigkeit der Streulichtzunahmegeschwindigkeit

2.2.1.3 Radiale Immundiffusion (RID)

Material:

Tri-Partigen-Platten für IgG, IgM, IgA, C3 und C4 der Firma Behring
Agarose H LKB
Gelplatten 2,6 cm x 8 cm
Antiseren gegen IgG, IgM, IgA, C3 und C4 und Standard-Humanserum der Firma Behring
PBS der Firma Serva

Eine weitere Bestimmungsmethode für die Immunglobuline und Komplementfaktoren war die radiale Immundiffusion. Für die Serumbestandteile wurden die Tri-Partigen-Platten der Firma Behring benutzt. In den Immunkomplexen war die Konzentration dieser Proteine für die Fertigplatten zu gering, deshalb wurde das Verfahren der radialen Immundiffusion in folgender Weise modifiziert (RID-mod.): Als Grundlage diente eine 1 % ige Agarose in PBS-Lösung. Bei einer Temperatur von 56° C wurde diese Gelsubstanz mit 0,15 - 0,5 ml gelöstem Präzipitat gemischt. Das Volumen der Gelsubstanz wurde so bestimmt, daß das Endvolumen von Agarose-Gel + Präzipitat stets 3,4 ml betrug (2,9 - 3,25 ml Gel). Diese Lösung wurde auf Gelplatten der Größe 2,6 x 8 cm^2 gegossen. Nach Erhärten des Gels wurden 5 Auftragsstellen ausgestanzt, in die je 5 µl Antiserum gegen IgG, IgM, IgA, C3 und C4 pipettiert wurden. Es bildeten sich im Verlauf von 2 Tagen Präzipitatringe, deren Durchmesser nach 48 Stunden mit einer Meßlupe abgelesen wurden. 2 Tage werden als die maximale Diffusionszeit angesehen.
Bei Verwendung von Standard-Humanserum anstelle des gelösten Präzipitats dienten die Ringdurchmesser zur Erstellung von Eichkurven (Abb. 6). Anhand dieser Kurven wurden die Konzentrationen der Proteine im Präzipitat abgelesen.
Die Antiseren diffundieren konzentrisch in das Gel ein und bilden mit den Immunglobulinen des im Gel enthaltenen Präzipitats Komplexe. Je höher dabei die Konzentration der

Immunglobuline und Komplementfaktoren im Präzipitat ist, desto größer ist die Komplexbildungsrate pro Diffusionsstrecke. Die Trübungsringe liegen näher an den Auftragsstellen. Bei niedrigen Immunglobulinkonzentrationen bzw. niedrigen Konzentrationen an Komplementfaktoren sind die Radien der Ringe größer.

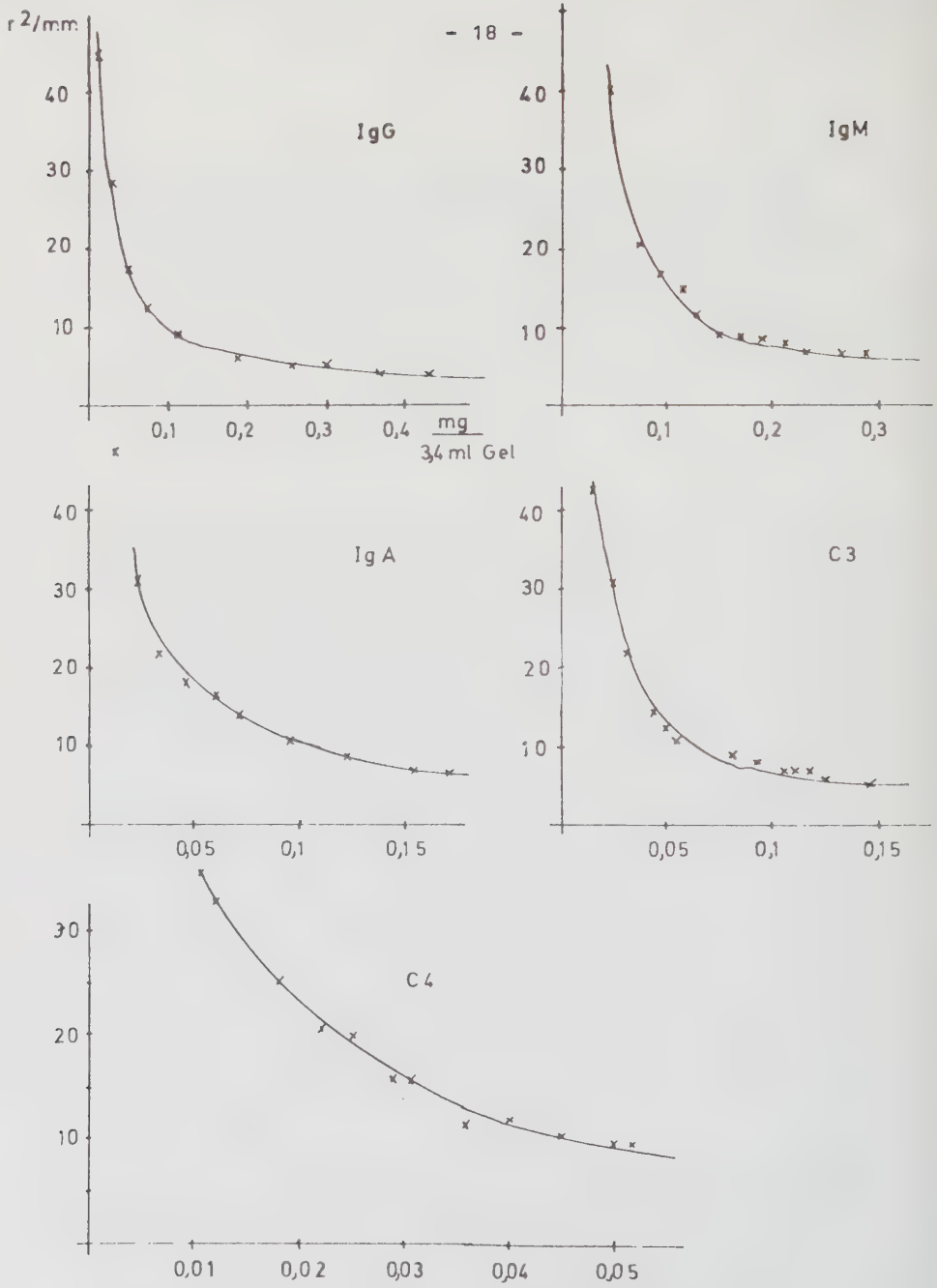
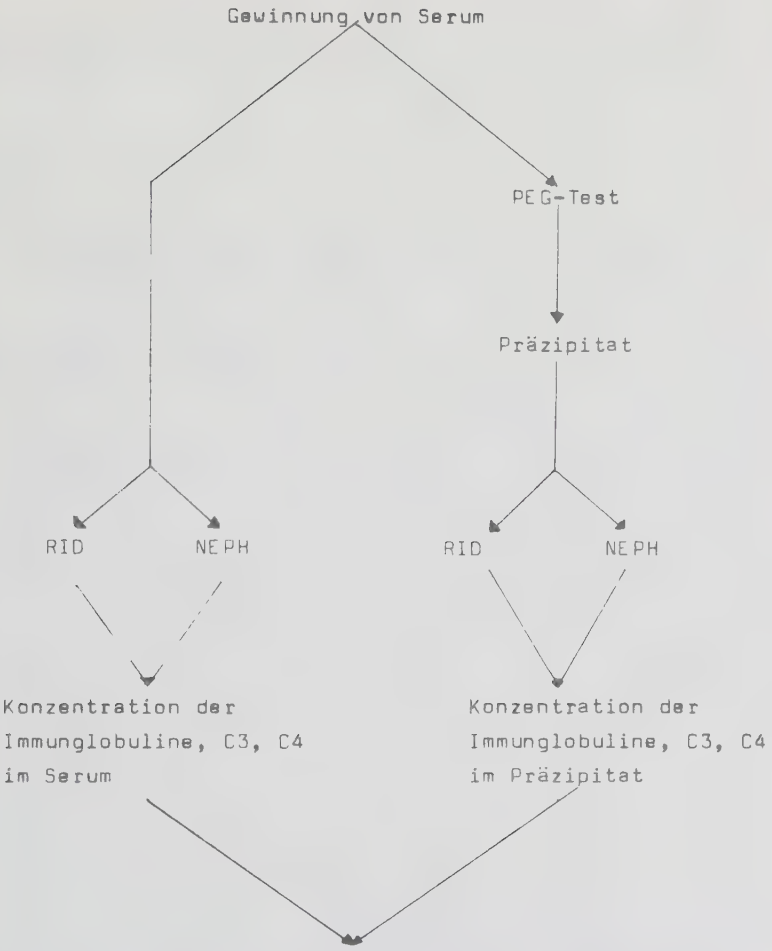


Abb. 6 Eichkurven für die RID-mod.

Es ergab sich für diese Studie folgender Arbeitsablauf:



2.2.2 Bestimmung bei SLE-Patienten

2.2.2.1 Millipore-Test

Material:

dAT (synthetische dsDNS)
Millipore-Filter der Firma Millipore, Porengröße 0,45 µm
SSC = 0,15 M NaCl , 0,2 M Natriumcitrat
Äthylenglykolmonomethyläther
Szintillatorflüssigkeit (Firma Zinsser): Unisolva I

Zum Nachweis der DNS-Antikörper im Serum wurde der Millipore-Test verwendet, der folgendermaßen ausgeführt wurde:
20 µl Serum wurden mit 20 µl dAT für 30 min. bei 37 ^{o} C inkubiert. Durch Zugabe von 8 ml SSC wurde die AG-AK-Reaktion unterbrochen und die Probe anschließend mit Hilfe einer Vakuumpumpe durch einen Millipore-Filter filtriert. Nach einmaligem Spülen mit 8 ml SSC und 5 ml Aqua dest. wurde der Filter in 1 ml Äther aufgelöst und die Radioaktivität gemessen (Packard Tri Carb Liquid Scintillation Spectrometer). Nach Zugabe eines entsprechenden Volumens an Szintillatorflüssigkeit zu den Proben wurden die Impulse bei 4 ^{o} C im Spectrometer für 5 min. gezählt.
Die Berechnung der DNS-Bindungskapazität erfolgte nach der Formel:

$$\text{DNS-Kap.} = \frac{R\,(s) - R\,(Lw)}{R\,(dAT)} \times \frac{C\,(dAT) \times V\,(dAT)}{V\,(s)}$$

R (s) Radioaktivität der Probe
R (Lw) Radioaktivität des Leerwertes
R (dAT) Radioaktivität der dAT
C (dAT) Konzentration der dAT
V (s) Volumen der Probe
V (dAT) Volumen der dAT

Die DNS-Bindungskapazität des Serums wird in µg gebundene dAT pro ml Serum ausgedrückt.
Bei diesem Test werden die DNS-Antikörper an dAT gebunden und durch Millipore-Filtration vom Serum getrennt. Die DNS-AK-dAT-Komplexe verbleiben im Filter, während Serum und ungebundene dAT hindurchgehen (24,38).Die Radioaktivität der gebundenen dAT wird anschließend gemessen.

2.2.2.2 Weitere Laboruntersuchungen

Die BSG wurde nach der üblichen Routinemethode von Westergren bestimmt. Außerdem wurde der Urin auf Eiweiß und Erythrozyten untersucht.

2.2.3 Bestimmung bei pcP-Patienten

Bei pcP-Patienten wurde der Rheumafaktor anhand des Latex-Fixationstests ermittelt.

2.2.4 Statistik

Zur statistischen Auswertung wurden aus den einzelnen Ergebnisreihen Mittelwerte gebildet. Der Vergleich dieser Mittelwerte wurde mittels t-Test durchgeführt. Die Zulässigkeit des t-Tests wurde vorher mit dem F-Test geprüft (51).

3. Ergebnisse Teil I

3.1 Vergleich der radialen Immundiffusion mit der kinetischen Nephelometrie

Die Routinediagnostik verwendet zur Immunglobulin- und Komplementbestimmung die Methode der radialen Immundiffusion. In dieser Arbeit diente dazu die Nephelometrie, da die Ergebnisse sofort verfügbar sind, während bei der RID 48 Stunden abgewartet werden müssen. Außerdem ist diese neue Methode weniger störanfällig, da die benötigten Serumverdünnungen automatisch hergestellt werden. Um sicherzustellen, daß beide Verfahren vergleichbare Ergebnisse liefern, wurden 20 Testseren sowohl mittels Nephelometrie als auch mittels RID bestimmt. Als Vergleichskriterium diente die Korrelation der Ergebnisse beider Methoden.

a) Vergleich der Serumwerte
Zunächst wurden die Immunglobuline und Komplementfaktoren im Serum mit beiden Methoden bestimmt. Abbildung 7 und Tabelle 4 zeigen eine Übersicht über die errechneten Mittelwerte. Es wird deutlich, daß die Mittelwerte bei der RID zwischen 5 % (IgA, C3) und 40 % (C4) höher liegen als bei der Nephelometrie. Die Korrelation beider Methoden ist signifikant bei $p < 0{,}001$. In Abbildung 8 ist diese Korrelation für IgG graphisch dargestellt.

b) Vergleich der Werte im Präzipitat
Zum weiteren Vergleich der Verfahren wurden die Proteine im Präzipitat bestimmt. Aufgrund der geringen Immunglobulin- und Komplementfaktorkonzentration war dazu die modifizierte radiale Immundiffusion nötig. Die Ergebnisse sind in Abbildung 7 und Tabelle 5 aufgeführt. Die Konzentration von IgA im Präzipitat lag unter der Nachweisgrenze der RID, d.h. bei Zugabe von größeren Mengen des Präzipitats wurde das Gel so trüb, daß die Präzipitatringe nicht mit der nötigen Genauigkeit ausgemessen werden konnten. Bei den übrigen Parametern zeigte sich eine deutliche Korrelation zwischen den beiden Methoden. Die nephelometrisch bestimmten

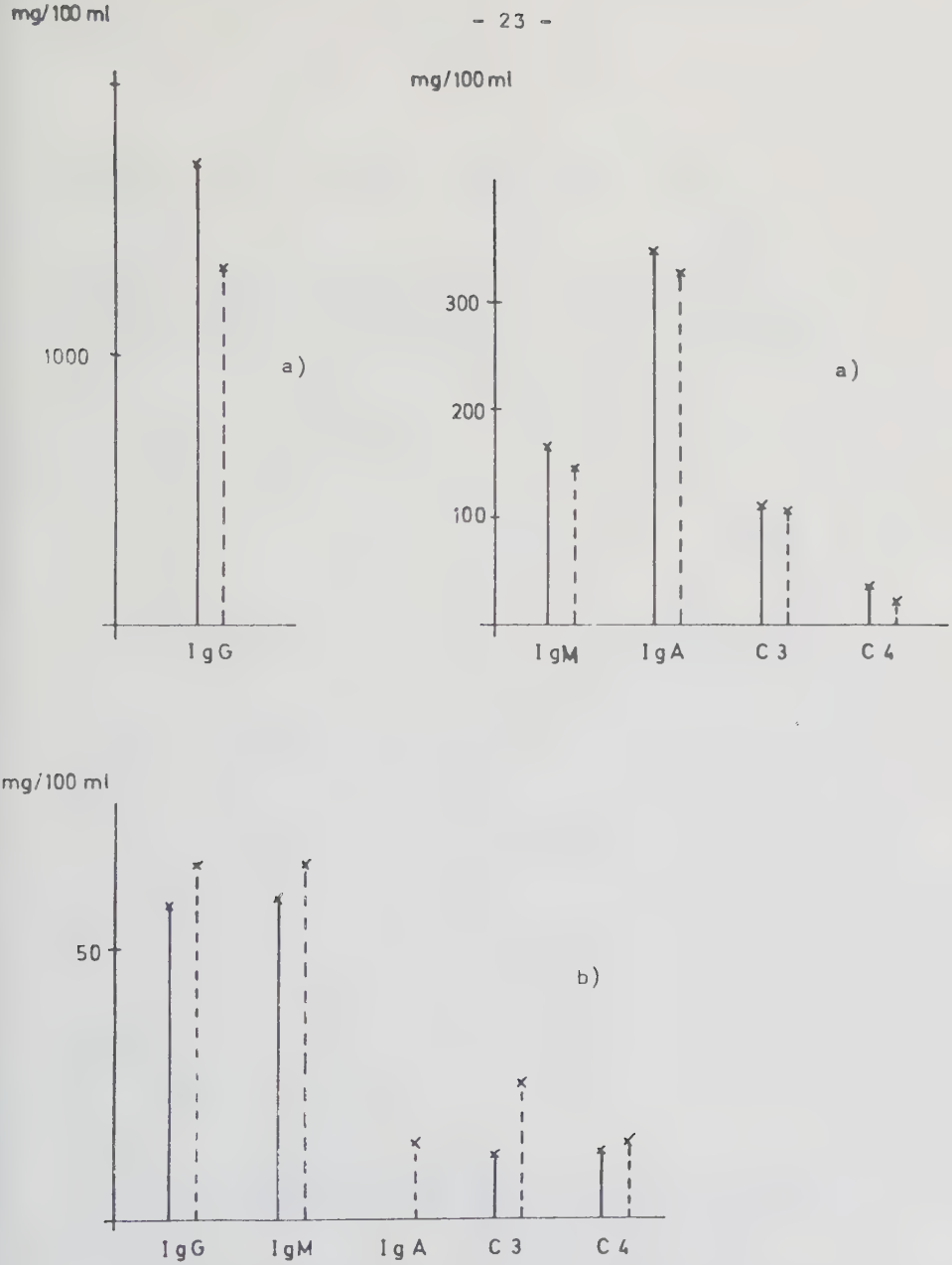


Abb. 7 Übersicht über die Mittelwerte a) im Serum b) im Präzipita

—— RID --- NEPH

Mittelwerte lagen hierbei um ca. 10 % über den durch RID erhaltenen, lediglich für C3 wurde ein Faktor 2 festgestellt.

Der Vergleich zeigt, daß beide Methoden zur Bestimmung der Immunglobuline und Komplementfaktoren geeignet erscheinen. Im folgenden wurde der Nephelometrie der Vorzug gegeben, da sie einfacher anzuwenden war.

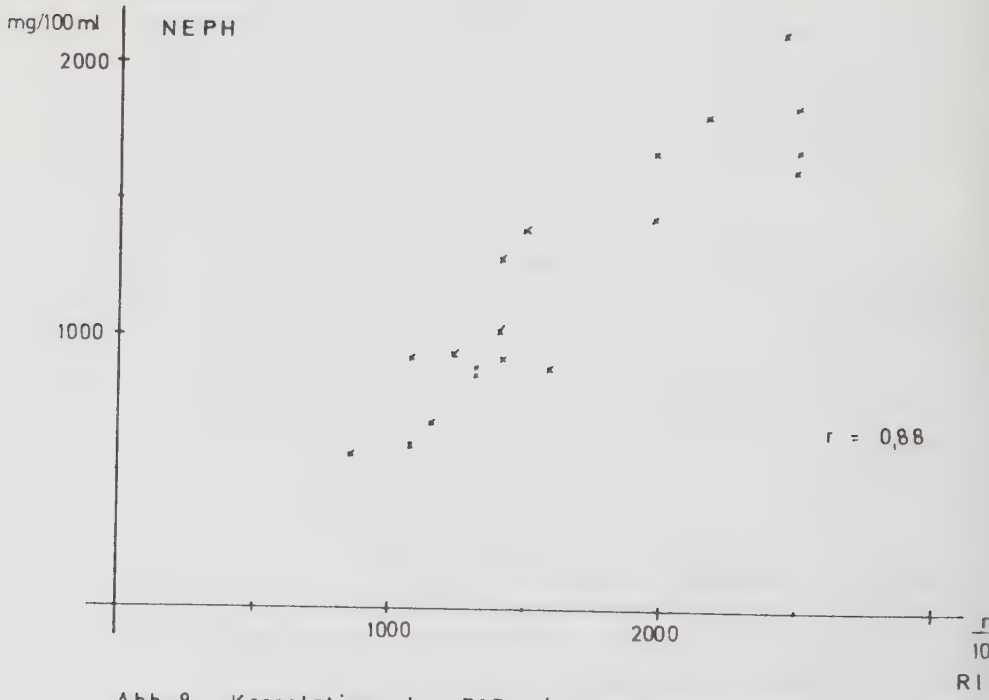


Abb. 8 Korrelation der RID mit der Nephelometrie am Beispiel von IgG

3.2 Das Normalkollektiv

3.2.1 Standardisierung

Für die Immunkomplexbestimmung durch PEG-Fällung und anschließende nephelometrische Messung der Immunglobuline und Komplementfaktoren existieren noch keine allgemeingültigen Normalwerte bzw. Normalbereiche. Deshalb wurden zunächst in 40 Serumproben von freiwilligen gesunden Blutspendern die Immunglobuline IgG, IgM, IgA und die Komplementfaktoren C3 und C4 im Serum und Präzipitat gemessen. Die Mittelwerte der Ergebnisse dienten der Aufstellung von Normalbereichen. Diese wurden definiert als Mittelwert $\pm$ doppelte Standardabweichung (Tab. 7 und 8, Abb. 9 a u. b).

Bei der Fällung mit PEG sedimentiert auch bei gesunden Personen immer eine gewisse Menge von Serumbestandteilen, die abhängig ist von der jeweiligen Molekülgröße und der Konzentration dieses Proteins im Serum. Große Moleküle wie IgM (MG 150000) fallen stärker aus als kleine; bei hohem Gehalt im Serum findet sich auch ein relativ hoher Gehalt im Präzipitat. Tabelle 6 und Abbildung 10 zeigen die Abhängigkeit der beiden Größen. Daher wurde der Gehalt jedes Parameters im Präzipitat auf den entsprechenden Serumwert bezogen. Die Prozentwerte, die sich bei den gesunden Personen ergaben, waren für jedes Protein unterschiedlich und dienten zur Ermittlung eines weiteren Normalbereichs (Tab. 9, Abb. 9 c) (10). Dieser lag für IgG bei 1,7 - 4,06 %, für IgM bei 6,37 - 34, 65 %, für IgA bei 0,5 - 10,42 %, für C3 bei 6,6 - 36,24 % und für C4 bei 13,73 - 68,81 % präzipitiertes Protein bezogen auf die Serumkonzentration. Die Zahl der Ergebnisse außerhalb dieser Grenzen betrug beim Normalkollektiv für IgG und IgA 2, für IgM 1, für C3 3 und für C4 4.

Die Immunglobuline und Komplementfaktoren, die in einem Prozentsatz ausgefällt werden, der über dem Normalbereich liegt, müssen als Bestandteile von Immunkomplexen aufgefaßt werden.

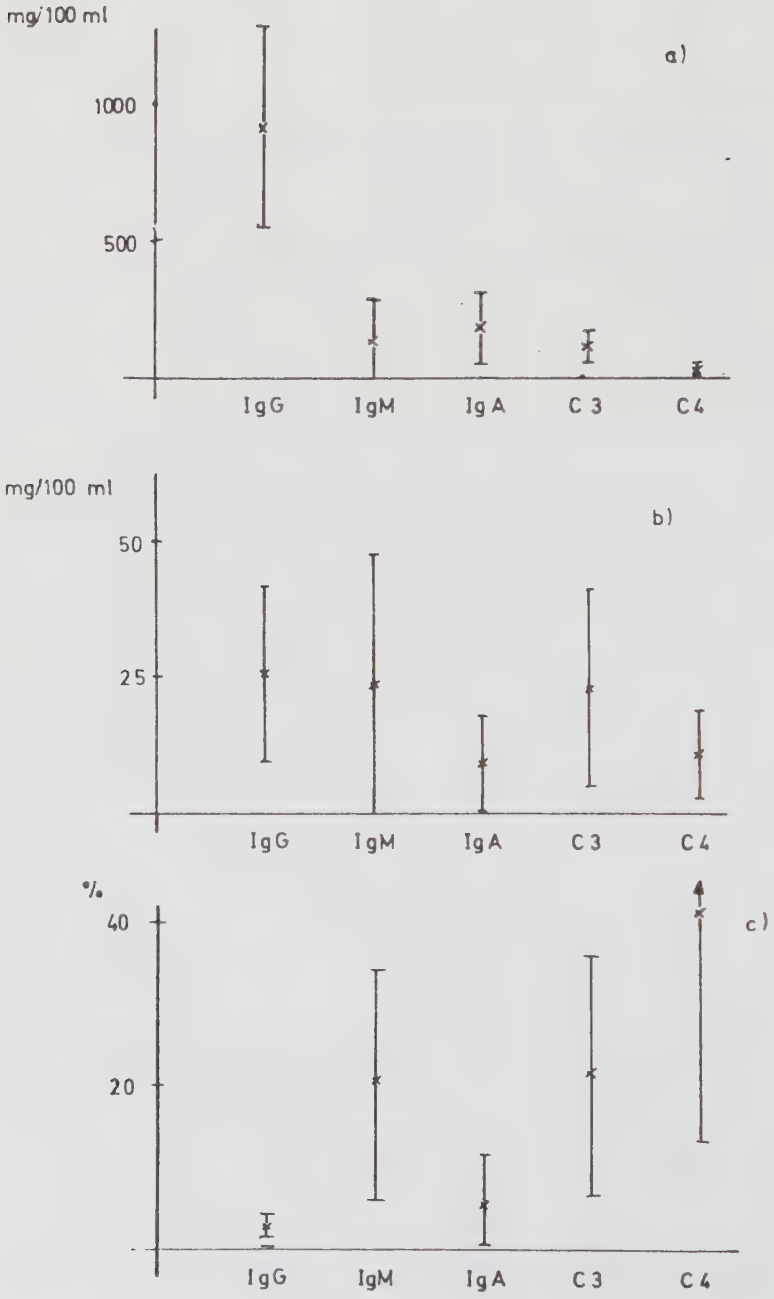


Abb. 9 Mittelwerte und Normalbereiche ($\bar{x} \pm 2s$) der Konzentration in a) Serum b) Präzipitat c) $\frac{\text{Präzipitat}}{\text{Serum}} \times 100$

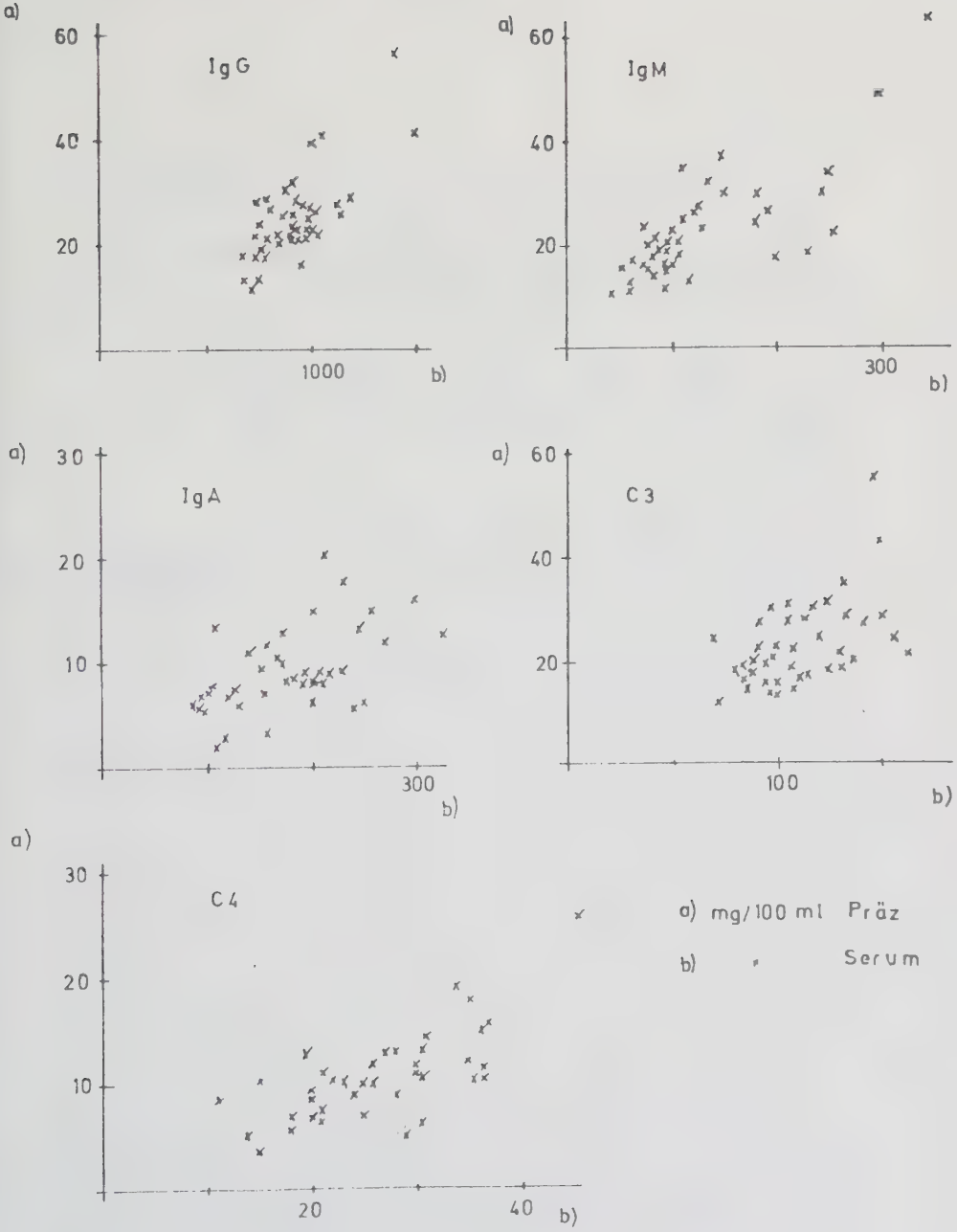


Abb. 10 Abhängigkeit der Präzipitatkonzentrationen von der jeweiligen Serumkonzentration

3.2.2 Reproduzierbarkeit

Um die Genauigkeit der Untersuchung zu überprüfen, wurde ein Serum an verschiedenen Tagen insgesamt 10-fach bestimmt (Tab. 10). Dabei zeigte sich, daß die Abweichungen vom Mittelwert zwischen 13 % und 23 % betrugen.

%	IgG	IgM	IgA	C3	C4
x	3,68	21,2	6,84	20,1	46,39
s	0,48	3,84	1,55	2,54	7,52
Var.-Koeff.	0,13	0,18	0,23	0,13	0,16

Tab. 10 Wiederholbarkeit

Die Ergebnisse entsprechen dem Prozentbereich ($\frac{\text{Präzipitat}}{\text{Serum}} \times 100$).

3.3 Untersuchungen an pcP-Patienten

3.3.1 Gesamtergebnisse

Die Immunkomplexbestimmung wurde an insgesamt 34 Seren von 20 Patienten mit pcP durchgeführt. Einigen der Patienten wurde an verschiedenen Tagen Blut abgenommen. Die Ergebnisse dieser Meßreihen sind in den Tabellen 11 und 12 sowie in der Abbildung 11 dargestellt. Für jedes Protein sind die Mittelwerte der Serum- und Präzipitatkonzentrationen festgehalten. Die Tabelle zeigt außerdem die jeweiligen Standardabweichungen.
Bei Betrachtung der Abbildung und der Tabellen fällt auf, daß der Gehalt an Immunglobulinen, C3 und C4 im Serum durchschnittlich höher war als im Normalkollektiv. Gleichzeitig stiegen jedoch, mit Ausnahme von IgM, die Varianzen an, so daß die Streubereiche des pcP-Kollektivs fast die gesamten Streubereiche des Normalkollektivs überdecken. Im Präzipitat waren die mittleren Konzentrationen aller Parameter und die zugehörigen Varianzen ebenfalls erhöht. Wie sich bei der Berechnung der Prozentwerte herausstellte, ließ sich dieser Unterschied nicht allein auf die höheren Serumwerte zurückführen. Besonders bei IgG lag der durchschnittliche Prozentwert des pcP-Kollektivs deulich über dem Normalbereich - allerdings war auch hier die Varianz größer, so daß mit dem t-Test keine Aussage über die Signifikanz dieses Unterschiedes möglich war. Die Streubereiche der Einzelwerte sind in Abbildung 12 im Vergleich zum Normalkollektiv dargestellt. Es wurden dabei nur die Prozentwerte berücksichtigt. Auch bei IgM, C3 und C4 zeigten sich leicht erhöhte Mittelwerte, während der Mittelwert von IgA recht gut mit dem des Normalkollektivs übereinstimmte (pcP: 5,74 % NK: 5,45 %). Die Anzahl positiver Ergebnisse, d.h. der Ergebnisse oberhalb des Normalbereichs, war deutlich größer als beim Normalkollektiv (Tab. 12). So waren z.B. für IgG 55,8 % der Werte positiv gegenüber 5 % beim Normalkollektiv.

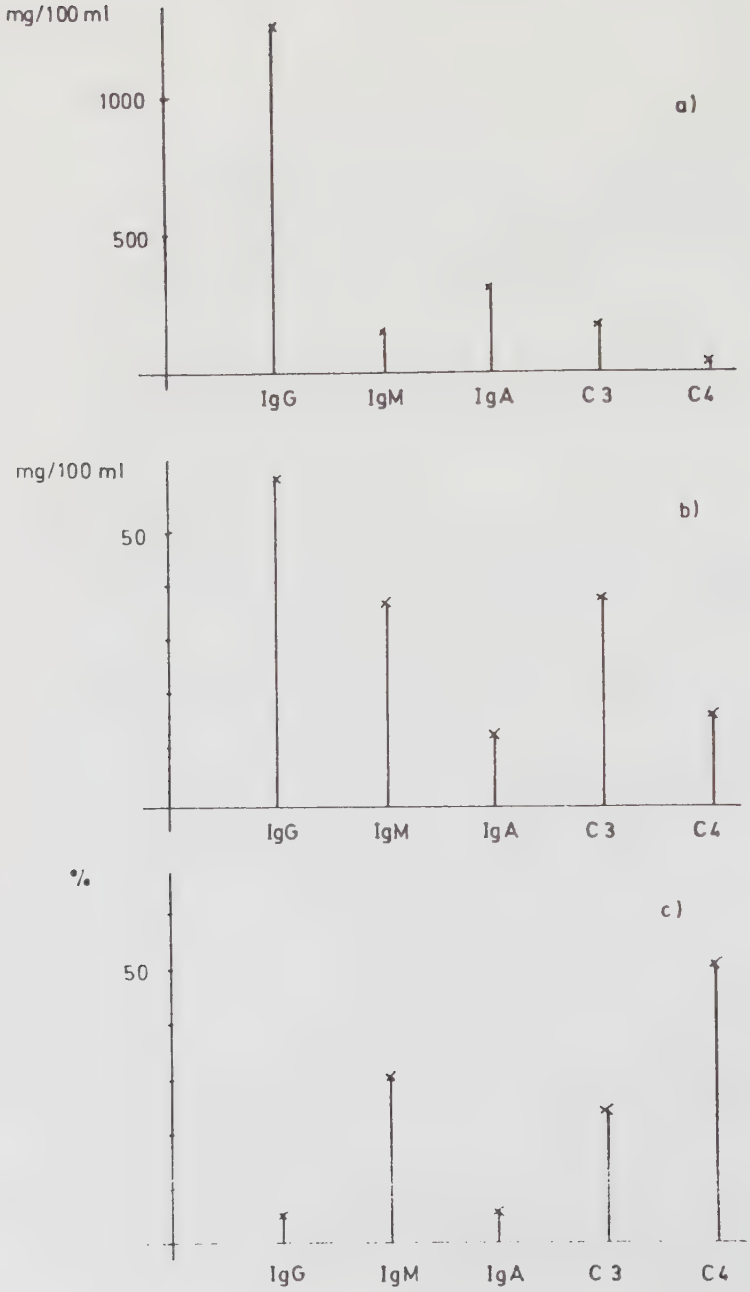


Abb. 11 Übersicht über die Mittelwerte bei pcP-Patienten in a) Serum b) Präzipitat c) $\frac{\text{Präzipitat}}{\text{Serum}} \times 100$

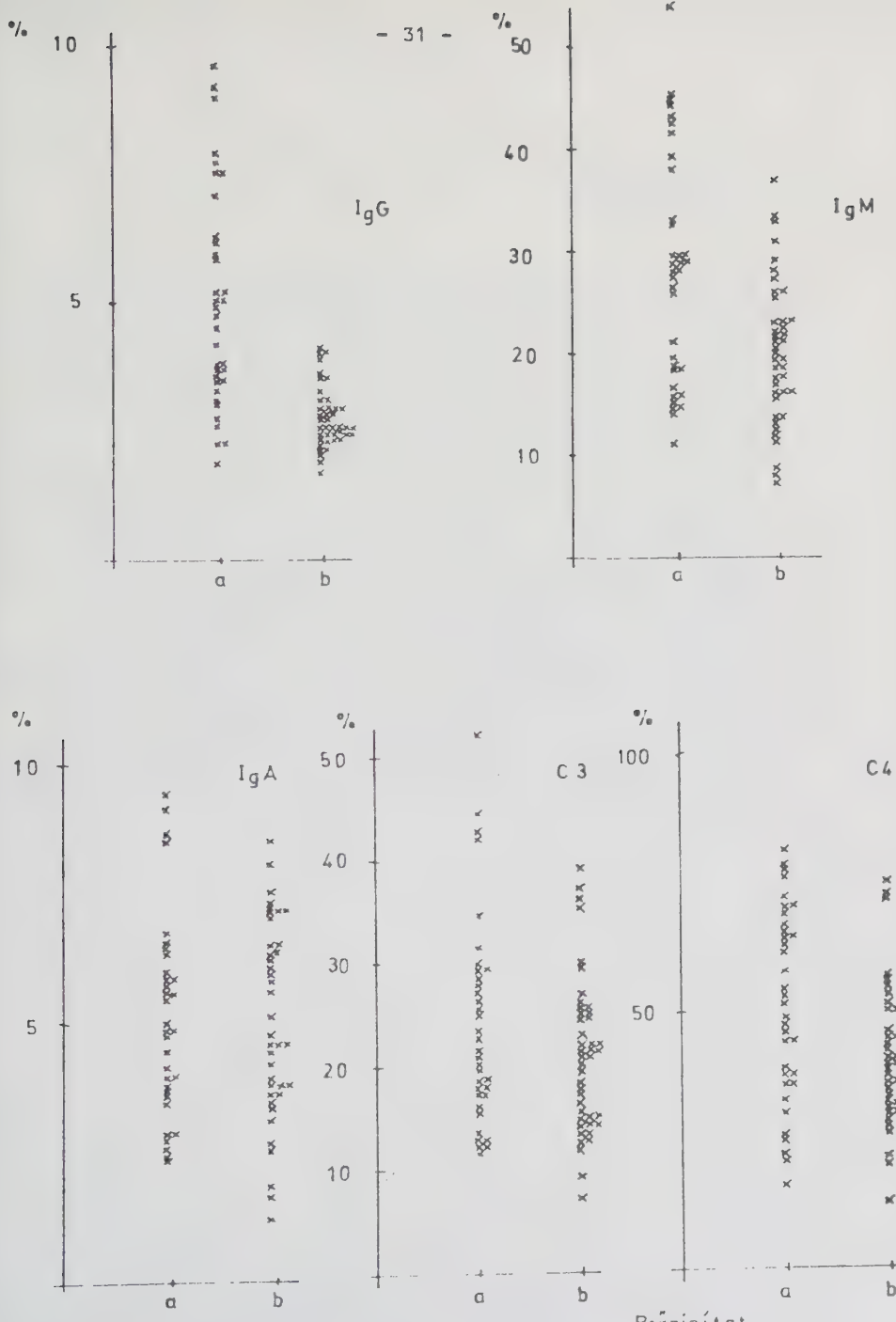


Abb. 12 Streuung der einzelnen Prozentwerte ($\frac{\text{Präzipitat}}{\text{Serum}} \times 100$)

bei a) pcP-Kranken b) gesunden Personen

3.3.2 Beziehung zwischen dem Immunkomplexspiegel und dem klinischen Bild

Es erhob sich nun die Frage, ob das klinische Bild der Patienten die Höhe des IC-Spiegels beeinflußt. Zu diesem Zweck wurden die pcP-Kranken, wie in Kapitel 2 beschrieben, nach dem jeweiligen Befund in die Gruppen aktiv - inaktiv eingeteilt. Von den 20 Patienten hatten 12 zum Zeitpunkt der Untersuchung eine aktive und 7 eine inaktive pcP, eine Patientin wurde je einmal in der aktiven und inaktiven Krankheitsphase untersucht. Abbildung 13 und die Tabellen 13 - 15 zeigen eine Gegenüberstellung der Ergebnisse, die bei der Immunkomplexbestimmung gewonnen wurden. Wie daraus hervorgeht, unterscheiden sich die Mittelwerte der beiden Gruppen nur geringfügig. Die Prozentwerte (präzipitiertes Protein bezogen auf die Serumkonzentration) liegen für IgG, IgM und IgA bei klinisch aktiver pcP etwas höher, für C3 und C4 gleich bzw. etwas niedriger als bei klinisch inaktiver pcP. Auffällig ist die größere Streuung bei Patienten mit aktiver pcP (Abb. 14)

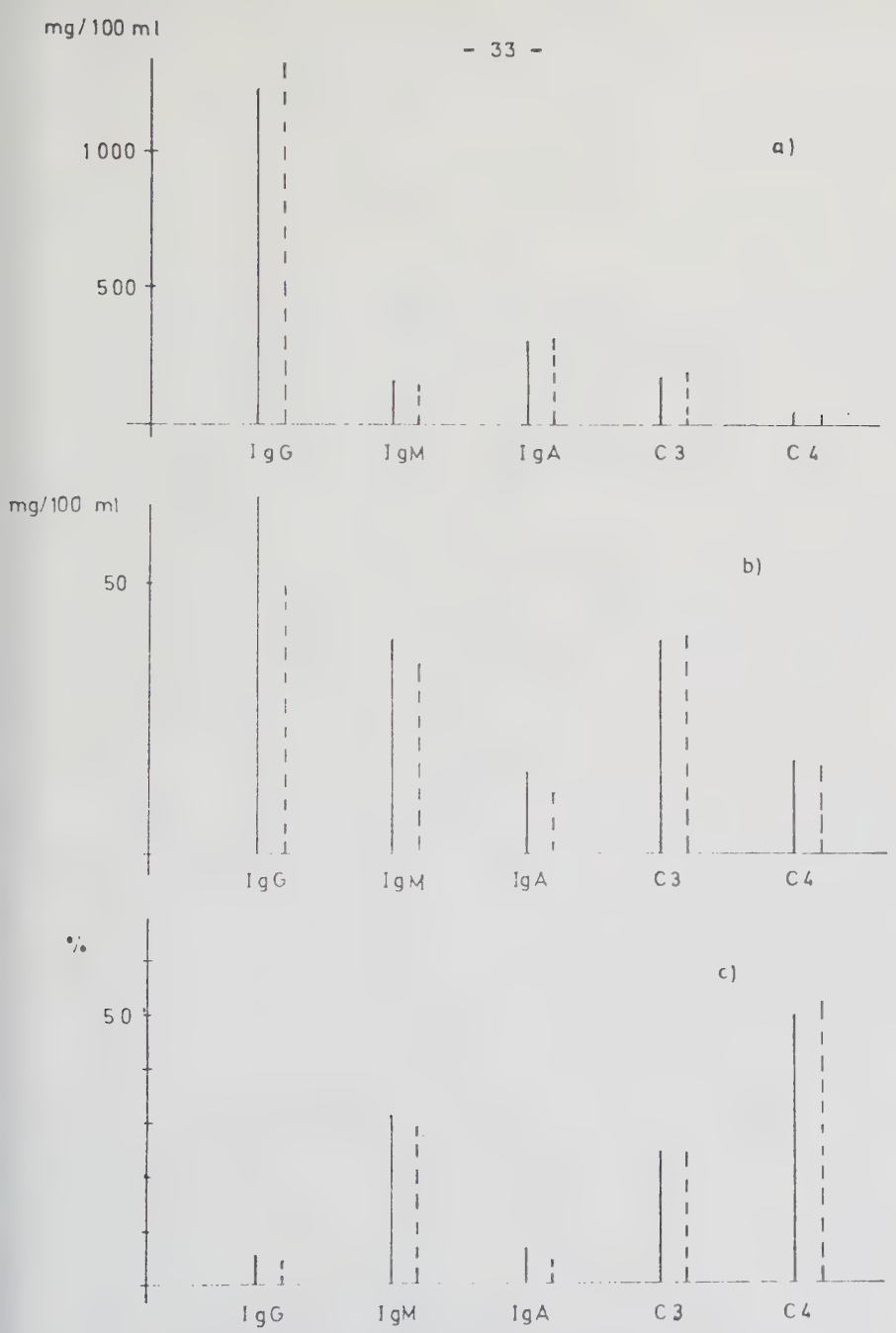


Abb. 13 Gegenüberstellung der Ergebnisse bei aktiver —— und inaktiver – – – pcP im a) Serum b) Präzipitat c) $\frac{\text{Präzipitat}}{\text{Serum}} \times 100$

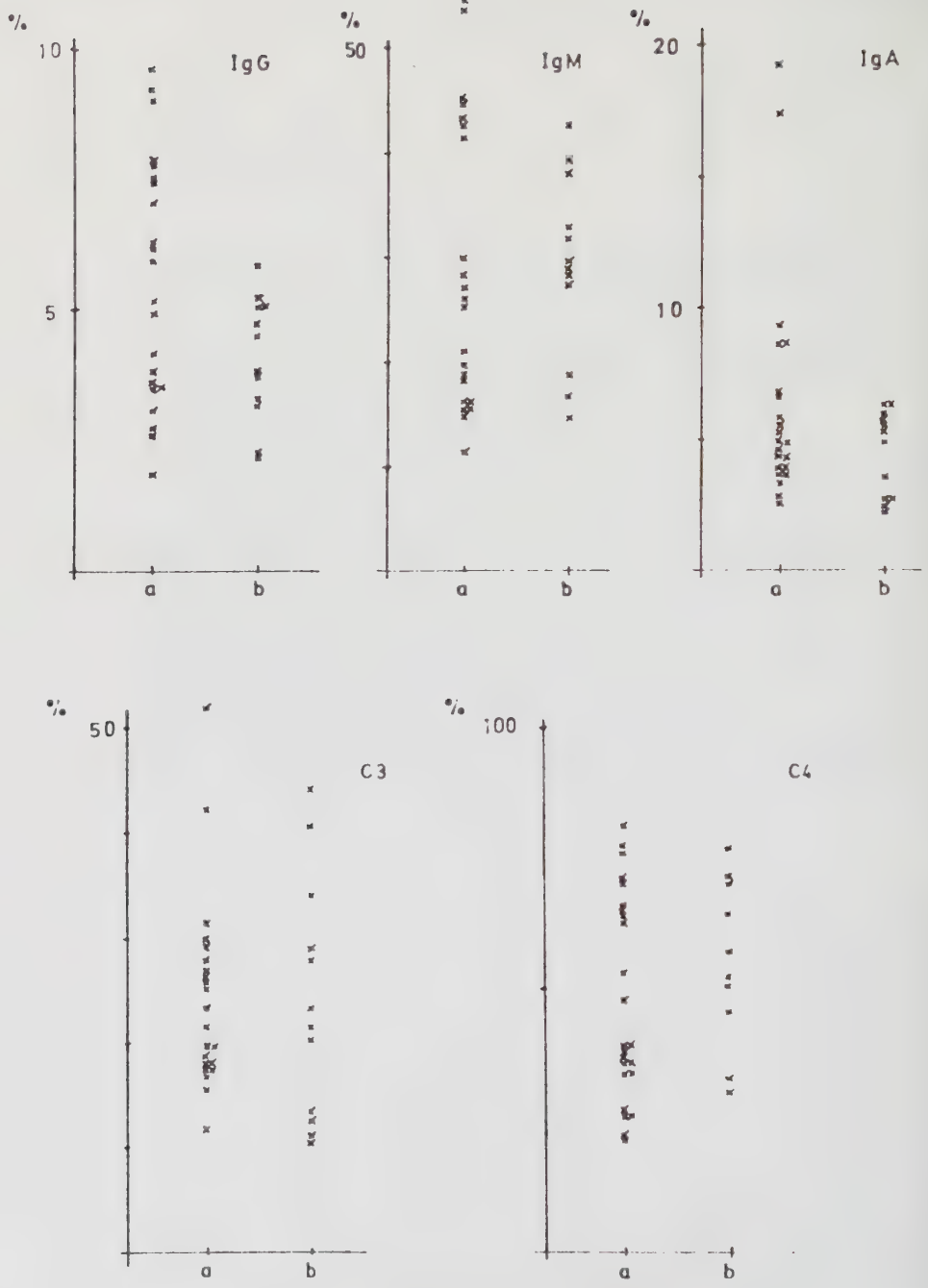


Abb. 14 Streuung der einzelnen Prozentwerte bei a) aktiver b) inaktiver pcP

3.3.3 Untersuchung an Rheumafaktor-positiven und -negativen Patienten

Der Rheumafaktor, der zur IgM- oder IgG-Fraktion gehört, ist häufig Bestandteil von Immunkomplexen. Deshalb sollte untersucht werden, ob in RF-positiven Seren vermehrt Immunkomplexe präzipitieren. Dazu diente eine Einteilung in RF-positive und RF-negative Patienten. Von 20 untersuchten pcP-Kranken wiesen 11 den Rheumafaktor auf, bei 9 war der Latex-Test negativ. Die Ergebnisse sind in Abbildung 15 und den Tabellen 16-18 aufgeführt.
Diese Aufstellungen zeigen, daß die mittleren Prozentwerte bei RF-positiven bzw. RF-negativen Patienten sich nicht wesentlich voneinander unterscheiden. Sie liegen bei RF-positiver pcP für IgG, IgM und C4 geringfügig höher, für IgA und C3 etwas niedriger als bei RF-negativer pcP.

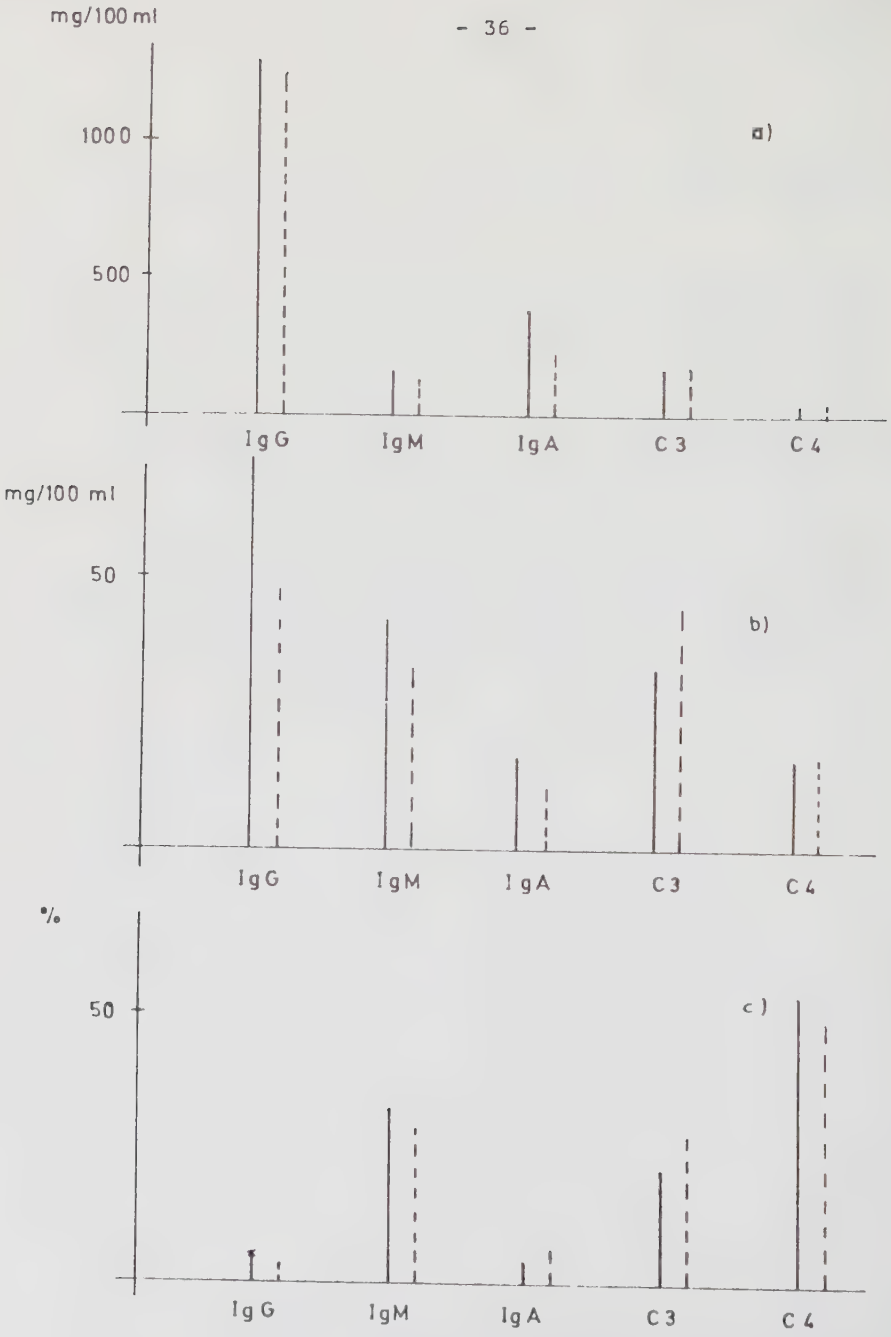


Abb. 15 Ergebnisse bei Rheumafaktor-positiver —— und -negativer pcP - - - im a) Serum b) Präzipitat c) $\frac{\text{Präzipitat}}{\text{Serum}} \times 100$

3.3.4 Untersuchung anderer Erkrankungen aus dem rheumatischen Formenkreis

Insgesamt 32 Patienten mit weiteren Erkrankungen aus dem rheumatischen Formenkreis wurden auf Immunkomplexe untersucht, davon 5 zweimal. Wegen der geringen Patientenzahl pro Erkrankung schien die Bestimmung von Mittelwerten und Standardabweichungen nicht sinnvoll. Stattdessen zeigt Tabelle 19 die Anzahl der positiven, d. h. über dem Normalbereich liegenden Prozentergebnisse.

	n	IgG	IgM	IgA	C3	C4
Arthritis	7	3	3	-	1	2
Arthrose	4	1	-	-	-	1
M.Bechterew	2	-	-	-	-	-
MCTD	4	2	1	-	-	1
pal. Rheum.	1	-	-	-	-	-
M.Reiter	2	-	1	-	-	1
Sjögr.-Syndr.	3	1	-	-	-	2
Vaskulitis	3	3	1	1	-	2
V. a. pcP	9	7	5	1	2	2
V. a. SLE	2	1	-	-	-	-
insgesamt	37	18	11	2	3	11

Tab. 19 Verteilung der positiven Ergebnisse auf verschiedene Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises

Aus der Aufstellung geht hervor, daß etwa die Hälfte der Patienten IgG-haltige Immunkomplexe aufweist. Auch bei IgM und C4 liegen deutlich mehr positive Ergebnisse vor als beim Normalkollektiv. Das deutet darauf hin, daß bei einem Teil der Erkrankungen - insbesondere bei Vaskulitis und Verdacht auf pcP - zirkulierende Immunkomplexe mit dem Krankheitsgeschehen einhergehen.

4. Ergebnisse Teil II

4.1 Immunkomplexbestimmung bei SLE-Patienten

110 Seren von Patienten mit einem systemischen Lupus erythematodes wurden nach der in Kapitel 2 beschriebenen PEG-Methode auf zirkulierende IC untersucht. Es handelte sich um 35 Patienten mit unterschiedlichem Verlauf und Schweregrad der Erkrankung, die zum größten Teil in 4 - 8wöchigen Abständen zur klinischen Untersuchung kamen. Die Diagnose SLE war bei ihnen gestellt worden, nachdem sie im Verlauf ihrer Erkrankung mindestens 4 der diagnostischen ARA-Kriterien erfüllt hatten. 29 der Patienten waren weiblich, was mit der bekannten Geschlechtsverteilung von 80 % zu 20 % übereinstimmte.

Aus den Bestimmungen aller 110 Seren wurden zunächst die Mittelwerte und Standardabweichungen berechnet. Sie sind in Abbildung 16 und den Tabellen 20 und 21 aufgeführt, getrennt nach Serum, Präzipitat und Prozentbereich.

Vergleicht man die Werte des SLE-Kollektivs mit denen der Normalpersonen (Kapitel 3.2.1 Tabelle 7,8 Abbildung 9), so fällt auf, daß die Standardabweichungen durchgehend höher sind als dort. Offensichtlich bestehen unter den SLE-Seren größere Unterschiede als unter "normalen" Seren. Aus diesem Grund - der Verschiedenheit der Varianzen nach dem F-Test - kann der t-Test zum Vergleich der Mittelwerte nicht herangezogen werden. Die Serumkonzentrationen von IgG, IgM und IgA scheinen bei den SLE-Patienten im Durchschnitt etwas höher zu liegen, die von C3 und C4 etwas niedriger als beim Normalkollektiv. Bei den Prozentwerten von IgG und IgM liegt eine deutlich höhere Zahl von SLE-Seren außerhalb des definierten Normalbereichs.

In Abbildung 17 sind die Klassenhäufigkeiten der Prozentwerte aller SLE-Seren denen der Normalseren gegenübergestellt. Zur besseren Vergleichbarkeit mit dem Normalkollektiv (n=40) wurden die SLE-Werte (n=110) so eingezeichnet, daß 3 Beobachtungen nur 1 Teilstrich auf der Ordinate entspricht, während bei den Normalseren 1 Teilstrich 1 Beobachtung bedeutet.

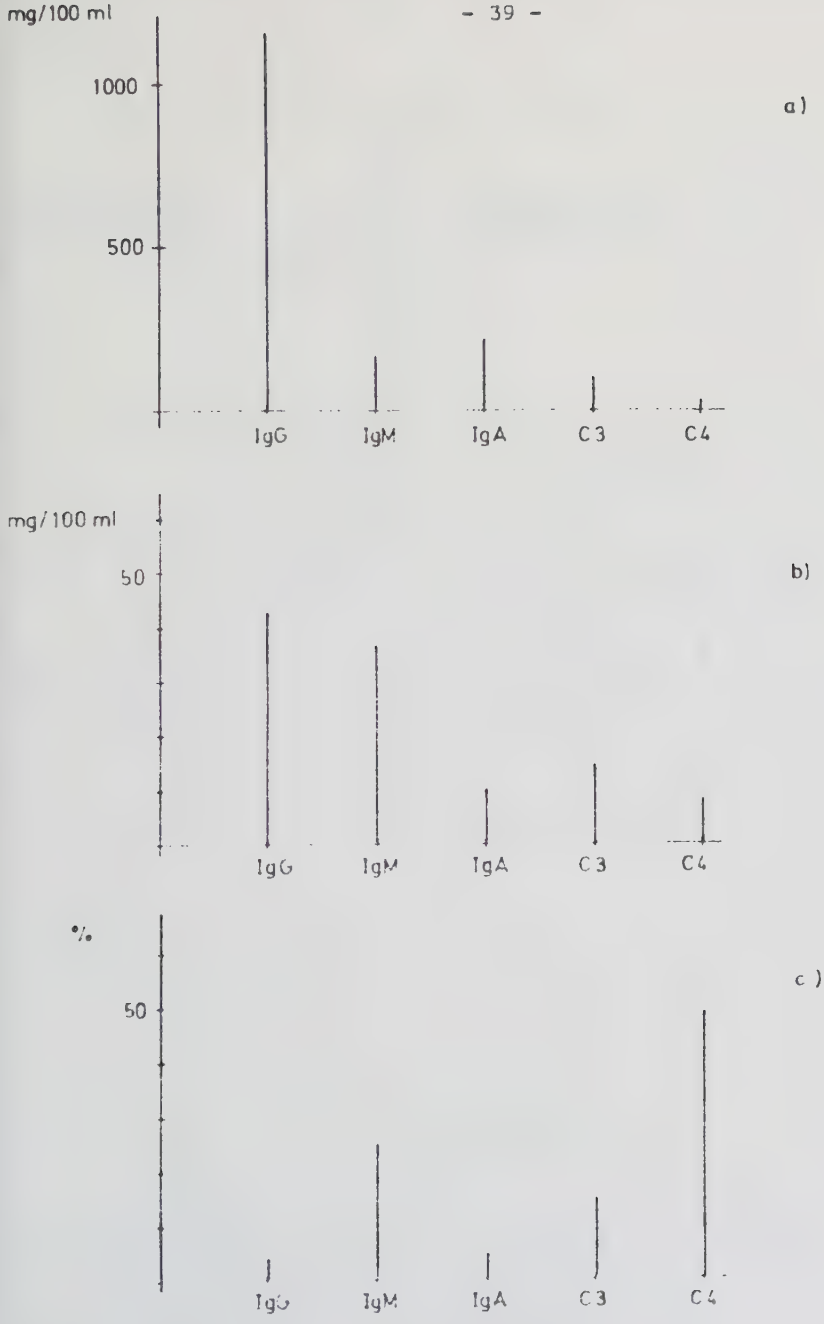


Abb 16 Mittelwerte im a)Serum b) Präzipitat c) $\frac{\text{Präzipitat}}{\text{Serum}} \times 100$ von SLE Patienten

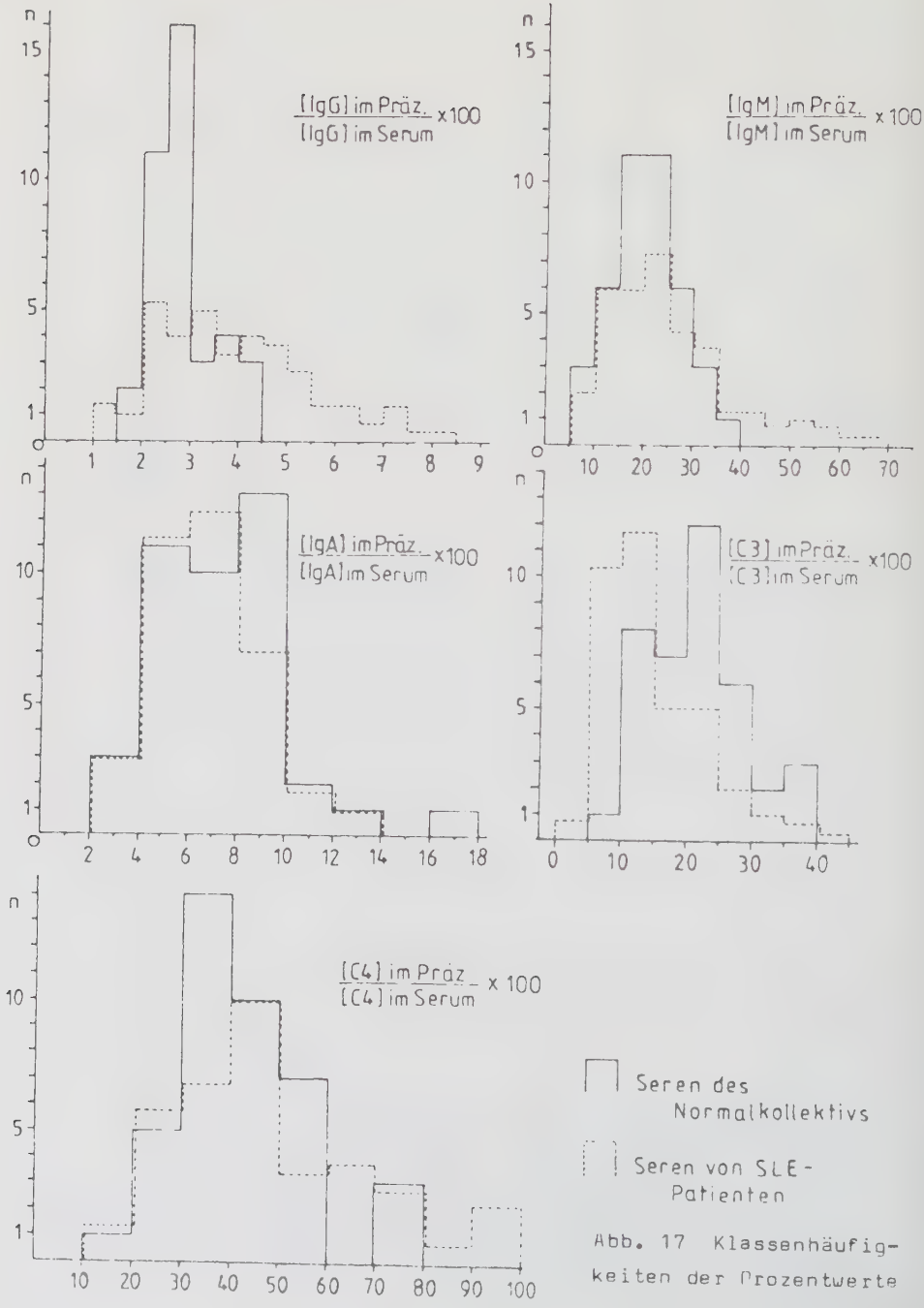


Abb. 17 Klassenhäufigkeiten der Prozentwerte

4.2 Vergleich der Immunkomplexe bei unterschiedlicher Aktivität des SLE

Wie in Kapitel 2 beschrieben, wurden die Patienten bei jeder Kontrolluntersuchung anhand ihrer Indexsumme in folgende Gruppen eingeteilt:

- SLE z. Zt. aktiv
- SLE z. Zt. mäßig aktiv
- SLE z. Zt. inaktiv

Die Seren wurden entsprechend geordnet: Je nach Befund am Entnahmetag konnte das Serum eines Patienten einmal in die erste und ein andermal in die zweite oder dritte Gruppe gehören. Mit dieser Einteilung sollte untersucht werden, ob der klinische Befund mit der Menge der PEG-präzipitierbaren Immunkomplexe korrelierte. In Tabelle 22 und Abbildung 18 sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der drei Gruppen für die einzelnen Parameter im Serum und als präzipitierter Anteil (Prozentbereich) gegenübergestellt. Wegen der geringen Zahl von Seren, die der aktiven Gruppe zugeordnet werden konnten ($n_1 = 11$), ist die Aussagekraft der für sie berechneten Mittelwerte geringer als bei den beiden übrigen Gruppen, die eine vergleichbare Anzahl von Beobachtungen enthalten ($n_2 = 50$, $n_3 = 43$).

4.2.1 Vergleich der Parameter im Serum

Der Mittelwert des IgG-Gehalts liegt am höchsten bei den Seren, die zum Zeitpunkt klinischer SLE-Aktivität entnommen wurden. Aufgrund der sehr hohen Varianz der einzelnen IgG-Werte konnte der Unterschied zu den beiden anderen Gruppen - Entnahme des Serums zum Zeitpunkt mäßiger bzw. fehlender Krankheitsaktivität - jedoch statistisch nicht gesichert werden. Für IgM, IgA und C3 sind die Abweichungen der Gruppen untereinander kleiner als für IgG: Soweit der t-Test hier zulässig war, ergaben sich keine signifikanten Unterschiede. Der C4-Spiegel in SLE-Seren, die während

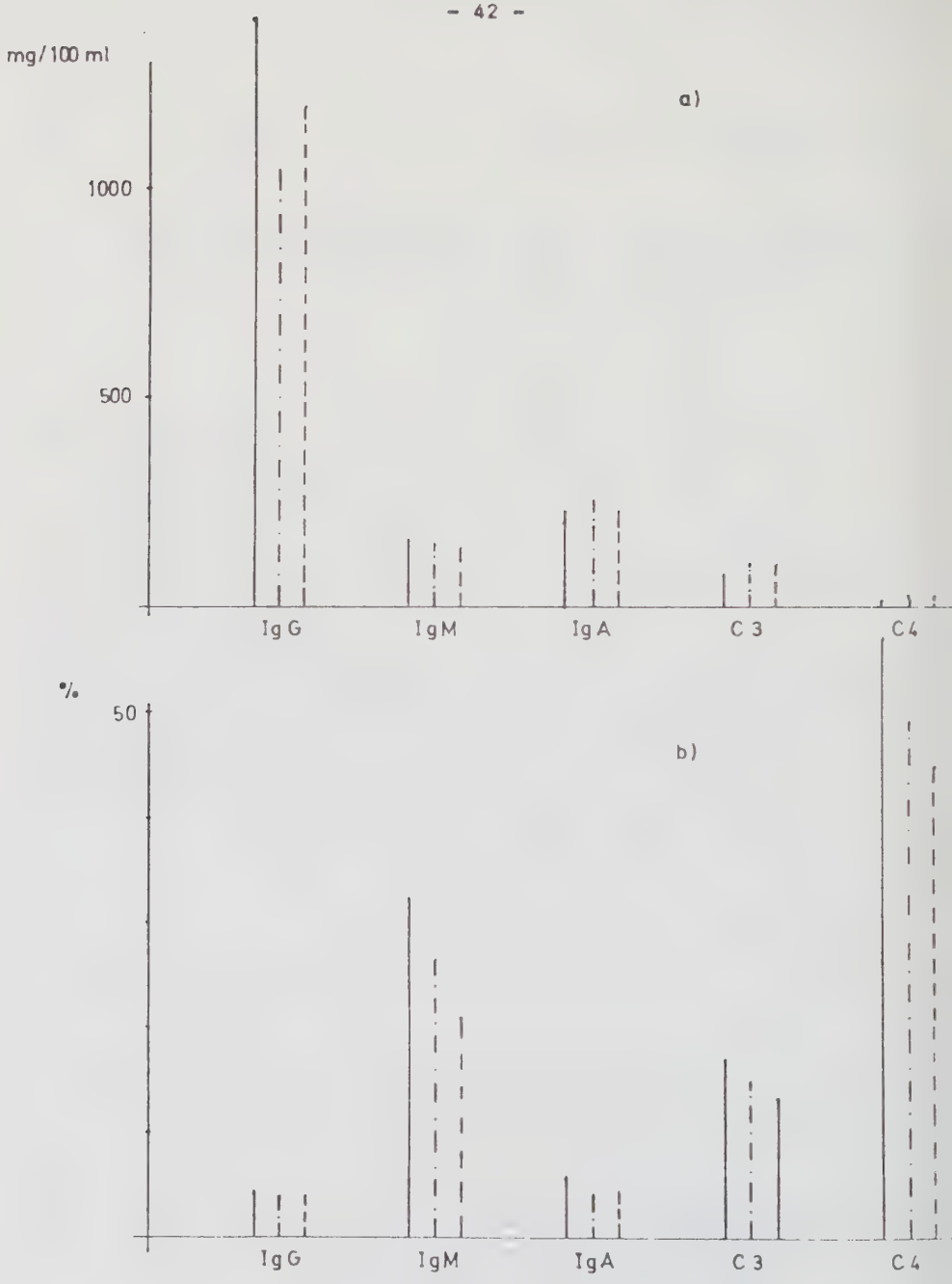


Abb. 18 Mittelwerte in a) Serum b) Prozentbereich bei aktivem ——— mäßig aktivem — · — inaktivem — — — SLE

klinischer Aktivität entnommen wurden, liegt niedriger als der des Normalkollektivs ($p < 0,001$). Das gleiche gilt auch für den C4-Gehalt von SLE-Seren, die zum Zeitpunkt fehlender Krankheitsaktivität entnommen wurden.

4.2.2 Vergleich der Menge an zirkulierenden Immunkomplexen

Mit der Ausnahme von IgA läßt sich eine charakteristische Rangfolge für die Prozentwerte (also den präzipitierten Anteil der Immunglobuline und Komplementfaktoren) erkennen. Die SLE-Seren, die bei fehlender Krankheitsaktivität entnommen wurden, weisen im Mittel den niedrigsten Prozentwert an präzipitiertem IgG, IgM, C3 und C4 auf, die zum Zeitpunkt klinischer Aktivität entnommenen Seren den höchsten. Die mittleren Prozentwerte der Seren, die aus einer Phase mit mäßiger SLE-Aktivität stammen, liegen zwischen denen der beiden anderen Gruppen. Abbildung 19 zeigt, welche Prozentwerte aufgrund gleicher Varianzen mit dem t-Test verglichen werden konnten. Zwischen dem niedrigsten und mittleren Prozentwert auf der einen Seite und dem mittleren und höchsten auf der anderen ergaben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede. Der Anteil an präzipitiertem C3 war in den SLE-Seren, die zum Zeitpunkt mäßiger Krankheitsaktivität entnommen wurden, niedriger als in den Normalseren ($p < 0,001$).

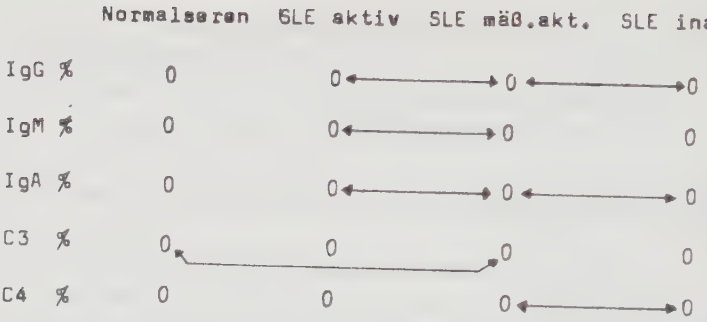


Abb. 19 Prozentwerte, die mit dem t-Test verglichen wurden

4.3 Vergleich der Menge an zirkulierenden Immunkomplexen bei Patienten mit und ohne SLE-Nephritis

Knapp die Hälfte der untersuchten SLE-Patienten litt an einer Glomerulonephritis, die heutigen Vorstellungen zufolge durch die entzündlichen Reize abgelagerter Immunkomplexe ausgelöst werden soll (37). Es lag daher nahe, die Menge und Zusammensetzung von löslichen IC bei Patienten mit und ohne Nierenbeteiligung zu vergleichen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 23 und Abbildung 20 dargestellt. Offensichtlich wurden alle untersuchten Parameter bei SLE-Patienten mit und ohne Immunkomplexnephritis in gleichem Prozentsatz mit PEG präzipitiert, so daß sich kein Anhalt für einen unterschiedlichen Immunkomplexspiegel finden ließ.

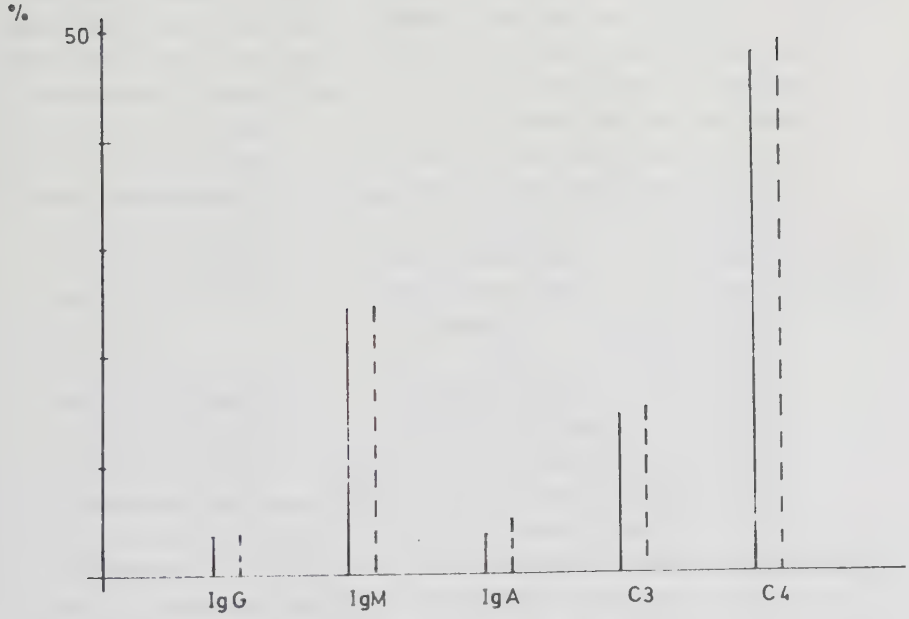


Abb. 20 Mittlere Prozentwerte bei SLE-Patienten
mit Nephritis —— ohne Nephritis - - -

4.4 Änderungen des Immunkomplexspiegels im Verlauf der Erkrankung

4.4.1 Korrelation zwischen Laboruntersuchungen und klinischem Befund

Ein Ziel der routinemäßigen Kontrolluntersuchungen bei SLE-Patienten ist es, die stets mögliche Exazerbation der Erkrankung so früh wie möglich zu erkennen und geeignete Therapiemaßnahmen einzuleiten. Zu diesem Zweck stehen folgende Untersuchungen zur Verfügung:

- die Bestimmung der DNS-Antikörper
  Ein Anstieg der DNS-Bindungskapazität des Patientenserums geht einem akuten SLE-Schub oft voraus oder parallel.
- der Nachweis von Eiweiß und Erythrozyten im Urin
  Protein- und Erythrozyturie deuten bei SLE-Patienten meist auf eine IC-Nephritis.
- die Messung der BSG
  Zunehmende SLE-Aktivität geht in der Regel mit einer deutlichen Erhöhung der BSG einher.
- die klinische Untersuchung
  Sie prüft das Auftreten von typischen SLE-Symptomen wie Arthralgien, Hautbeteiligung, Pleuritiden u.a.m.

Die obengenannten Untersuchungen wurden bei 10 Patienten mit den Ergebnissen der im gleichen Zeitraum erfolgten IC-Bestimmungen verglichen. Um den Zusammenhang zwischen Änderungen der klinischen SLE-Aktivität und dem IC-Spiegel zu prüfen, wurde wieder der Index nach KALDEN (Kap.2) herangezogen. Anstieg oder Abfall der Indexsumme um einen Punkt wurde als schwache, der Anstieg oder Abfall von 2 oder mehr Punkten als mittlere bis starke Änderung der Krankheitsaktivität angesehen. Anschließend wurde untersucht, in wievielen Fällen eine gleichgerichtete Bewegung des IC-Spiegels innerhalb von 2 Monaten (1 Monat vor bis 1 Monat nach der Aktivitätsänderung) zu beobachten war. Umgekehrt wurde ermittelt, ob eine Zu- bzw. Abnahme der Menge an löslichen Immunkomplexen in jeden Fall mit einer veränderten Krankheitsaktivität einherging. In gleicher Weise wurden die BSG und die DNS-Bindungs-

kapazität mit dem SLE-Index in Beziehung gesetzt. Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind in Tabelle 24 dargestellt.

	mittl. bis starker Anstieg d. SLE-Aktivität	leichter Anstieg d. SLE-Aktivität
mit Anstieg der IC	4/5	2/4
mit BSG-Erhöhung	4/4	1/3
mit Anstieg der DNS-Bindungskapazität	2/2	1/2

	mittl. bis starker Rückgang der SLE-Aktivität	leichter Rückgang der SLE-Aktivität
mit Abfall der IC	1/4	4/7
mit BSG-Rückgang	4/4	7/7
mit Rückgang der DNS-Bindungskapaz.	3/5	2/5

Tab. 24 Beziehung zwischen Änderung der SLE-Aktivität und laborchemischen Untersuchungen

Die Änderung im IC-Spiegel betrafen IgG und/oder IgM, gelegentlich assoziiert mit C4.
Als zuverlässigster Laborparameter zur Kontrolle der SLE-Aktivitätsänderung erwies sich in dieser Verlaufsstudie die BSG, die sich in 16 von 18 Fällen gleichsinnig veränderte. Die DNS-Bindungskapazität verhielt sich in 7 von 14 Fällen entsprechend, der IC-Spiegel in 11 von 20. Ebenfalls 11mal war jedoch auch ein vergleichbares Ansteigen bzw. Absinken des IC-Spiegels zu beobachten, obwohl eine Änderung der SLE-Aktivität ausblieb. Bei der BSG und der DNS-Bindungskapazität war das dagegen nie der Fall.

4.4.2 Kasuistik

- Patientin U. T.
  Die 1953 geborene Patientin U. T. leidet seit 1965 an SLE, der sich zuerst durch Erytheme, Arthritiden und Myalgien manifestierte. Seit Beginn der Erkrankung traten mehrfach Fieberschübe auf; Erytheme, Arthritiden und Myalgien rezidivierten mit wechselnder Intensität. 1976 wurde eine Pleuritis diagnostiziert. Zwischenzeitlich ging es der Patientin gut. Im Mai 1980 fand sich erneut eine Pleuritis; ein Vierteljahr später traten Schmerzen im Handgelenk auf. Bis zum Ende des Beobachtungszeitraums war die Patientin wieder beschwerdefrei.

- Patientin B. T.
  Bei der 1943 geborenen Patientin B. T. traten seit Anfang 1979 zunehmend Arthralgien auf, die von den Hand- und Fußgelenken ausgehend auf Knie- und Hüftgelenk übergriffen. Hinzu kamen Schmerzen in der rechten Schulter und im Nacken; es bestand eine deutliche Akrozyanose und eine Raynauld-Symptomatik. Im Mai 1979 bildete sich ein generalisiertes Erythem aus. Die Patientin leidet außerdem an einer SLE bedingten restriktiven Ventilationsstörung, Myalgien, starken Kopfschmerzen sowie an Hypästhesie und Hypalgesie im Bereich des rechten Nervus facialis. Im Beobachtungszeitraum waren die beschriebenen Symptome mit gewissen Intensitätsschwankungen deutlich ausgeprägt.

- Patient B. R.
  Patient B. R., 1962 geboren, leidet seit 1977 an SLE. Es kam im Verlauf der Erkrankung zu Fieberschüben und Polyarthritiden, 1979 trat zusätzlich eine kutane Vasculitis an beiden Beinen auf. Ab Sommer 1980 kam es zu einer zunehmenden Protein- und Erythrozyturie; die Anfang 1981 durchgeführte Nierenbiopsie ergab den Befund einer SLE-Nephritis vom WHO-Typ 3. Während des Beobachtungszeitraumes ging es dem Patienten subjektiv gut.

Die Untersuchungsergebnisse der oben beschriebenen Patienten sind in den folgenden Abbildungen 21 - 23 graphisch dargestellt. Die Abbildungen zeigen jeweils die Zuordnung der Werte der Immunkomplexbestimmung, der BSG und des Aktivitätsindex' zum Beobachtungszeitpunkt.

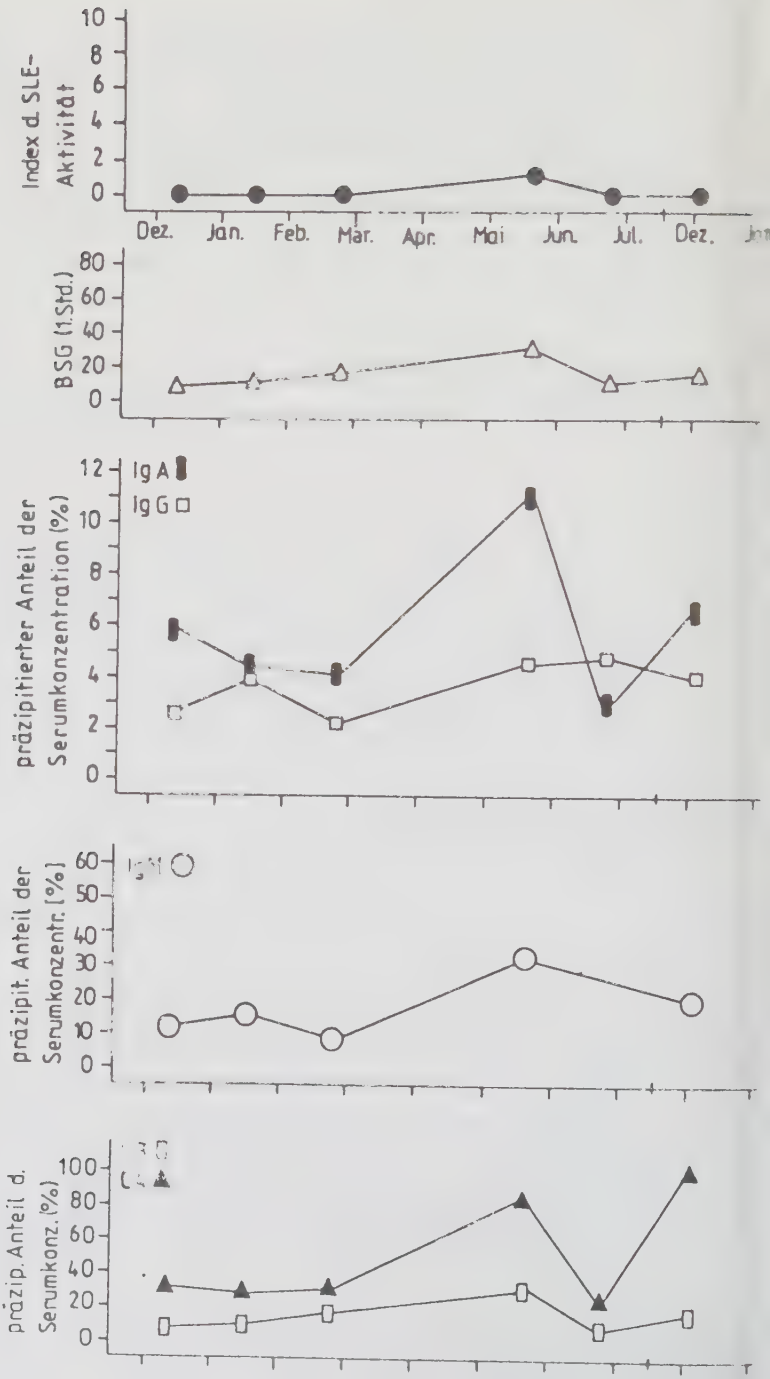


Abb. 21
Patientin U.T.

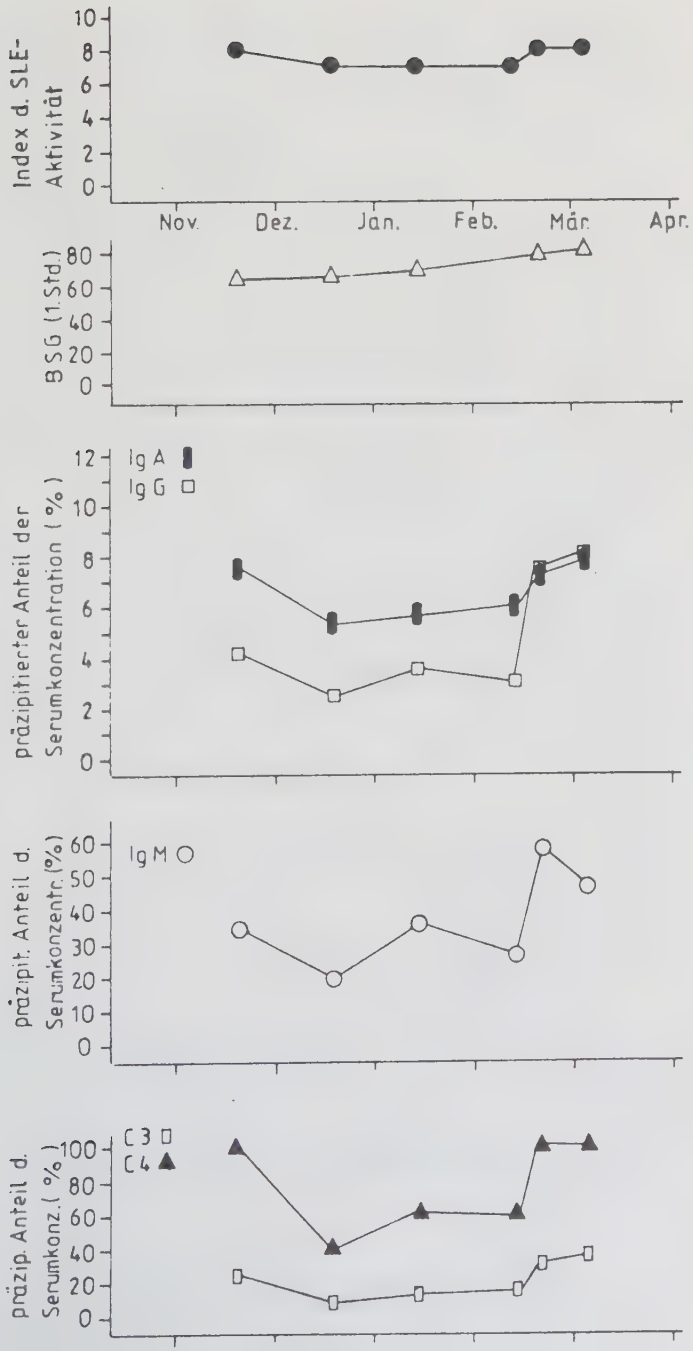


Abb. 22
Patientin B.T.

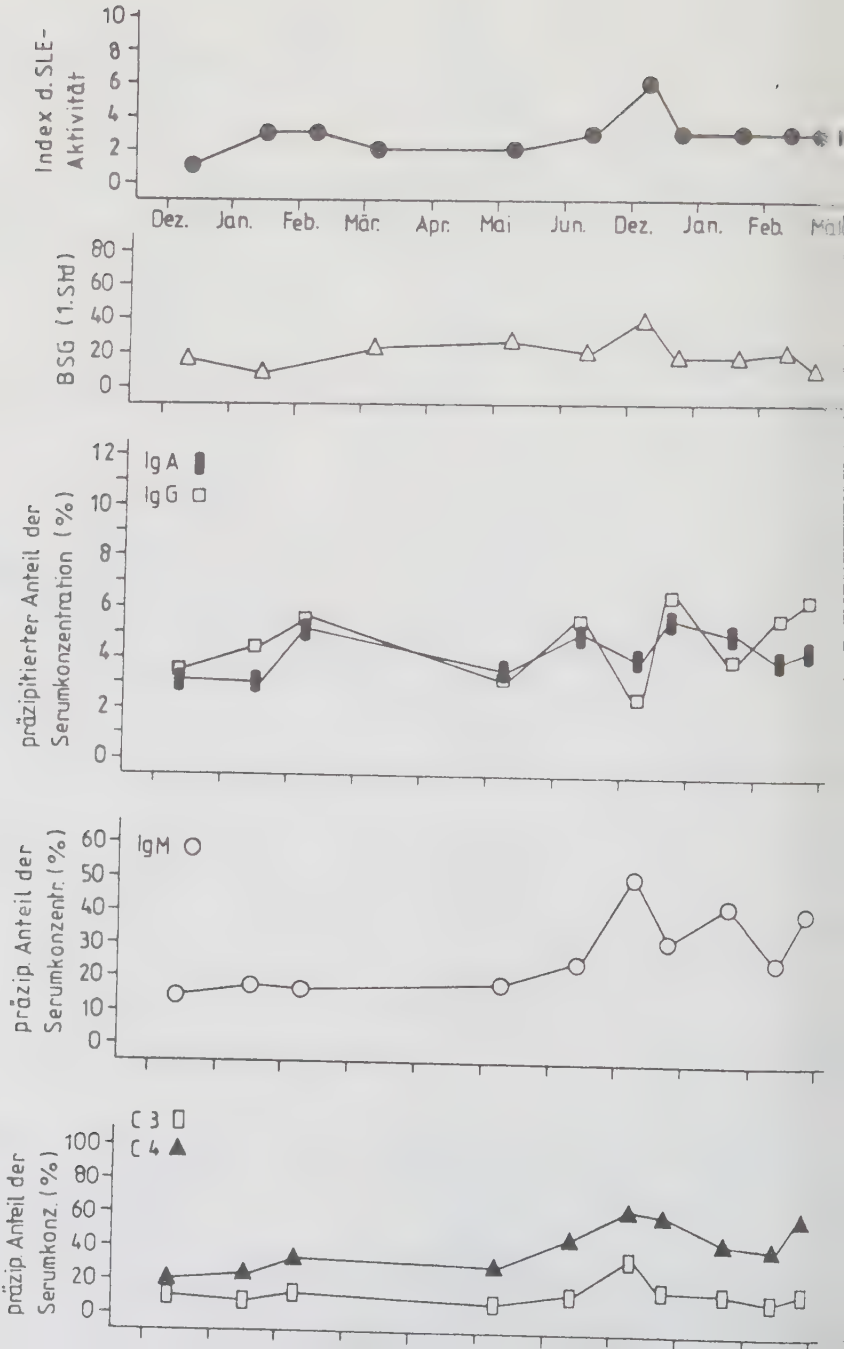


Abb. 23
Patient B.R.

5. Diskussion

In dieser Arbeit wurden Immunkomplexe im Serum von gesunden Personen, Patienten mit pcP und SLE sowie anderen Erkrankungen aus dem rheumatischen Formenkreis bestimmt. Dazu diente die Fällung mit Polyäthylenglykol.
Frühere Untersucher haben gezeigt, daß auch im Serum gesunder Versuchspersonen ein bestimmter Anteil von Immunglobulinen und Komplementfaktoren in 3,5 - 4 % PEG ausfällt. Dieser Anteil ist, wegen seiner Abhängigkeit vom Molekulargewicht, für jedes Protein unterschiedlich, aber - nach CHIA (10) und DIGEON (15) - über einen weiten Bereich direkt proportional zur Serumkonzentration des entsprechenden Proteins. ZUBLER (62) fand hingegen einen logarithmischen Anstieg von präzipitiertem IgG mit der Serumkonzentration, allerdings in 7,5 % PEG und 50facher Serumverdünnung. Unsere eigenen Messungen an 40 Normalpersonen bestätigen die Ergebnisse von CHIA: Die Menge eines Immunglobulins oder Komplementfaktors im PEG-Präzipitat ist eine direkte Funktion seiner Serumkonzentration. Somit konnte für jedes Protein ein Normalbereich definiert werden, der den jeweiligen Mittelwert des präzipitierten Serumanteils ± 2 Standardabweichungen überdeckt und in Prozent ausgedrückt wird.
Derartige Normalbereiche wurden bisher erst in 2 Arbeiten von DIGEON und CHIA aufgestellt (10,15), DIGEON ließ allerdings den C3-Wert unberücksichtigt. Beide Autoren verwendeten zur Quantifizierung der Parameter die radiale Immundiffusion. Die Bereiche für IgG und C3 entsprachen auch unseren Ergebnissen. Abweichungen fanden sich für IgM, IgA und C4. Dabei fiel auf, daß DIGEON zu äußerst geringen Standardabweichungen kam. Dies kann jedoch dadurch erklärt werden, daß er Immunkomplexbestimmungen an 70 gesunden Personen vornahm, jedoch nur die Ergebnisse von 25 Bestimmungen zur Berechnung des Normalbereichs heranzog. Daraus ergab sich z.B. für IgM ein Normalbereich von 19,9 - 24,6 %, während die Ergebnisse der 70 Einzelbestimmungen von 15 - 40 % streuten.

Der Prozentsatz der außerhalb liegenden, d.h. IC-positiven Normalseren, stimmte für die Immunglobuline in beiden Arbeiten mit unseren Ergebnissen überein, er lag immer unter 5 %. Für C3 und C4 fanden wir jedoch eine größere Anzahl positiver Seren.

Immunkomplexe spielen wahrscheinlich eine bedeutende Rolle in der Pathogenese der pcP. Schon FRANKLIN (22) fand eine hochmolekulare Proteinkomponente im Serum pcP-Kranker, die wahrscheinlich den IC zuzurechnen ist. Später wurden diese im Serum, in Synovia, Synovialflüssigkeit und Rheumaknoten nachgewiesen (39,46,59,61). Da auch bei anderen entzündlichen und degenerativen Gelenkerkrankungen Immunkomplexe in der Synovialflüssigkeit gefunden wurden, jedoch nicht im Serum, scheint die IC-Bestimmung im Serum in bezug auf die pcP aussagekräftiger zu sein. Mittels PEG-Fällung und anschließender Immunglobulinmessung wurde dies bisher nur von CHIA durchgeführt. Bei CHIA (10) lagen die Bereiche, über die die Prozentwerte der pcP-Patienten streuten, für IgG und IgM höher als in dieser Arbeit, gemessen an dem ebenfalls höheren Normalbereich war der Unterschied bei IgM allerdings gering. Die Anzahl positiver Ergebnisse stimmte für beide Immunglobuline gut mit unseren Ergebnissen überein; die Mittelwerte lagen über denen des Normalkollektivs. ZUBLER (64) erhielt mit der C1q-Methode eine etwas größere Anzahl positiver Ergebnisse (63 % bzw. 74 % gegenüber 56 % IgG-haltiger IC in unserer Studie). Die IgA- und C3- Bereiche entsprachen bei uns denen des Normalkollektivs, während CHIA bei mehr als der Hälfte seiner pcP-Seren erhöhte Werte fand und sein C3-Bereich signifikant über seinem Normalbereich lag. Trotzdem war hierbei die Anzahl positiver Ergebnisse kleiner (7 %) als in unseren Ergebnissen (12 %). Für C4 erhielt CHIA keinen signifikanten Unterschied zum Normalbereich, bei uns jedoch lagen der Mittelwert und die Zahl positiver Ergebnisse (24 %) deutlich höher. Wegen der unterschiedlichen Varianzen durfte der t-Test allerdings nicht angewendet und so die Signifikanz nicht gesichert werden.

Der Vergleich zwischen Seren, die zu Zeitpunkten unterschiedlicher Krankheitsaktivität entnommen wurden, zeigte keine relevanten Unterschiede zwischen den Aktivitätsgraden. Der Prozentsatz präzipitierter Immunglobuline und Komplementfaktoren zeigte jedoch in der aktiven Krankheitsphase größere Schwankungen. Offenbar ist der IC-Spiegel bei einzelnen Patienten mit aktiver pcP zwar erhöht, liegt bei den meisten jedoch nicht über dem von Patienten mit inaktiver pcP. Das heißt also: Bei erhöhter Krankheitsaktivität muß der Immunkomplexgehalt im Serum nicht ansteigen. Zumindest für IgG-Komplexe scheint aber ein umgekehrter Schluß möglich zu sein: Stark vermehrt (über 6 % Präzipitat pro Serumkonzentration) fanden sie sich nur im Serum von Patienten mit aktiver pcP.

Es ist bekannt, daß ca. zwei Drittel der pcP-Patienten Rheumafaktor-positiv sind bzw. werden (43). Der Rheumafaktor gehört zur IgM- oder IgG-Klasse und kann Bestandteil eines IC sein (59). Dabei bildet er entweder mit Antikörpern neue Komplexe oder er heftet sich an bestehende an. Dies wird dadurch gestützt, daß einige Autoren (39, 37) größere IC (22 S - 30 S) bei pcP als bei SLE (19 S) fanden. CHIA wies nach, daß der überwiegende Teil der Rheumafaktoren in Form von IC präzipitiert wird; die geringe Menge nicht komplexgebundener RF bleibt - bis auf die konzentrationsabhängige unspezifische Fällung - im Überstand. ZUBLER (61) erhielt bei Rheumafaktor-positiven Seren eine signifikant höhere C1q-Bindungsaktivität als bei Rheumafaktor-negativen Seren, allerdings bestand keine Korrelation zwischen dem IC-Spiegel und dem Titer des Rheumafaktors. In unseren Untersuchungen fanden sich nur geringe Unterschiede zwischen diesen beiden Gruppen. Das könnte darauf hindeuten, daß der Rheumafaktor nicht nur neue IC bildet, sondern sich zum großen Teil an bestehende anlagert.

In dieser Arbeit war es nicht möglich, mit dem PEG-Test einen

signifikanten Unterschied im IC-Spiegel zwischen pcP-Kranken und gesunden Personen festzustellen. Wegen der Abweichungen vom Normalkollektiv bei den Prozentwerten von IgG, IgM und C4 und der höheren Anzahl positiver Ergebnisse kann man jedoch vermuten, daß bei einem Teil der Kranken zirkulierende Immunkomplexe vorhanden sind. Dies trifft aber nicht generell für alle pcP-Patienten zu.

Auch bei anderen Erkrankungen aus dem rheumatischen Formenkreis wird eine Immunkomplexbeteiligung diskutiert. Unsere Ergebnisse unterstützen diese Vermutung: die Hälfte der untersuchten Patienten wies zirkulierende IC auf. Wegen der geringen Patientenzahl pro Erkrankung können diese Resultate jedoch nur als Hinweise dienen.

Der Bildung und Ablagerung von Autoimmunkomplexen wird heute eine entscheidende Rolle in der Pathogenese des SLE zugeschrieben. Deshalb wurde schon oft mit verschiedenen Methoden der Versuch unternommen, zirkulierende IC im Serum von SLE-Patienten nachzuweisen und zu quantifizieren. Tabelle 25 gibt einen Überblick über einige derartige Studien aus den letzten Jahren. Für jede dieser Untersuchungen wurde ein Normalbereich aus 50 - 150 Seren gesunder Versuchspersonen ermittelt; der Anteil IC-positiver Seren lag immer unter 5 %.

Offenbar hängt der Prozentsatz IC-positiver SLE-Seren außer vom tatsächlichen Gehalt an Immunkomplexen von der Art des angewandten IC-Tests ab. ABRASS (1) fand bei identischen Seren mit zwei verschiedenen C1q-binding assays unterschiedliche Zahlen IC-positiver Ergebnisse, außerdem bestand keine Korrelation zwischen den beiden Tests.

Anhand unseres IgG-Normalbereichs im PEG-Präzipitat (bezogen auf die Serumkonzentration) wurde ermittelt, welcher Prozentsatz der SLE-Seren Immunkomplexe enthielt. Wie aus Tabelle 25 ersichtlich, liegt er in der Größenordnung des von HARKISS 1978 und ABRASS 1980 (a) gefundenen. Die zusätzliche Bestimmung von IgM erbrachte eine nur um 6 % höhere Anzahl an positiven

Untersucher	Anzahl d. SLE-Seren		davon IC-positiv	angewandter IC-Test
THEOFILOPOULOS 1975 (54)	13		100 %	Raji-Zelltest
HÄLLGREN 1976 (26)	17		58 %	^{125}I-Protein-A-Test
DIGEON 1977 (15)	65		69 %	PEG-Fällung und Messung der O.D.
HARKISS 1978 (27)	58		57 %	PEG-Fällung und Messung des Komplementverbrauchs
HARKISS 1979 (28)	124		48 %	"
CHIA 1979 (10)	60		72 %	PEG-Fällung und RID für IgG
ABRASS 1980 (1)	48	a)	48 %	Fluid-phase C1q-binding assay
		b)	58 %	Solid-phase C1q-binding assay
ZUBLER 1978 (63)	60		83 %	^{125}I-C1q-binding assay
Ergebnisse dieser Arbeit	108		47 %	PEG-Fällung und kin. Nephelometrie für IgG

Tab. 25 Aufstellung bisheriger Studien über CIC bei SLE

Resultaten, da von den 18 der für IgM positiven Seren zwei Drittel gleichzeitig IgG-haltige Immunkomplexe aufwiesen. Für die Beteiligung von IgA an SLE-Immunkomplexen gab es keinen Anhalt. Eine isolierte Erhöhung des präzipitierten C4 Anteils wurde nur in knapp 3 % der Seren beobachtet, gegenüber 15 % mit gleichzeitiger IgG und/oder IgM Vermehrung im Präzipitat. Da eine gesteigerte Ausfällung von Komplementfaktoren in PEG auf ihre Fixierung an bestehende IC deutet, ist dieses Verhalten verständlich. CHIA (10) ermittelte 1978 aus 44 SLE-Seren durch PEG-Fällung und Quantifizierung mittels RID ebenfalls SLE-Bereiche für präzipitiertes IgG, IgM, C3 und C4 bezogen auf die Serumkonzentration. Dabei lag der IgG-Bereich etwa um das doppelte höher als der von uns gemessene, was sich im größeren Anteil IC-positiver Seren niederschlug (Tab. 25). In einer früheren Untersuchung hatte er allerdings aus 16 SLE-Seren einen IgG-Bereich errechnet, der sehr gut mit unseren übereinstimmte.(4). Für IgM fand CHIA einen etwas größeren Unterschied zwischen seinem Normal- und Patientenkollektiv, für IgA und C3 einen deutlich größeren. Dabei ist auffallend, daß wir bei 9 % der SLE-Seren einen erniedrigten C3-Anteil im Präzipitat fanden, CHIA hingegen in 32 % einen erhöhten. Der Prozentsatz an SLE-Seren mit abnorm stark ausgefälltem C4 war bei uns doppelt so hoch wie im Normalkollektiv, CHIA maß hier keinen Unterschied zwischen Kranken und Gesunden.

Über die Beziehung zwischen Krankheitsaktivität und Immunkomplexspiegel liegen bisher verschiedene, zum Teil widersprüchliche Ergebnisse vor. Die Mehrzahl der Autoren (10,27,28,63) fand bei aktivem SLE mehr IC im Serum als bei inaktivem bzw. während Remissionsphasen, ABRASS (1) hingegen stellte keine Korrelation zwischen der Menge an zirkulierenden IC und der SLE-Aktivität fest. In der vorliegenden Arbeit kamen wir zu einem ähnlichen Ergebnis wie ABRASS, wofür folgende Gründe in Betracht zu ziehen sind:

a) In früheren Untersuchungen wurden die Kriterien nicht genau angegeben, nach denen die klinische Einteilung der Patienten erfolgt war. Dadurch sind Vergleiche zwischen den Ergebnissen nur bedingt möglich.

b) Da es fließende Übergänge zwischen SLE mit niedriger und hoher Aktivität gibt, erschien es uns nicht sinnvoll, nur die zwei Untergruppen "aktiv" und "inaktiv" zu bilden. Stattdessen verwendeten wir zur Einteilung der SLE-Patienten einen modifizierten Index nach KALDEN (35).

c) Während das Patientengut früherer Arbeiten zum überwiegenden Teil den aktiven SLE umfaßte, war es uns möglich, bei verschiedenen Aktivitätsphasen der Erkrankung zu untersuchen.

Um unsere Einteilung an die der früheren Autoren anzugleichen, hätten wir die Seren der inaktiven (n = 43) und der mäßig aktiven (n = 50) denen der aktiven (n = 11) und der hoch aktiven (n = 0) gegenüberstellen müssen. Angesichts des dann entstehenden Mißverhältnisses der Gruppengrößen wurde auf eine statistische Auswertung verzichtet.

In den Glomerula abgelagerte IC wurden schon in mehreren Studien als Ursache bestimmter Nephritiden beschrieben (6, 16,56). Auch den Zusammenhang zwischen Nierenerkrankung und zirkulierenden Immunkomplexen prüften verschiedene Autoren: HARKISS (28) und CHIA (10) fanden bei SLE-Kranken mit Nephritis mehr IC im Serum als bei solchen ohne Nephritis. Im Gegensatz dazu ist in den Arbeiten von ZUBLER (63) und TRÜN (56) kein derartiger Zusammenhang feststellbar. In unserer Untersuchung konnten wir die letztgenannten Autoren bestätigen: Patienten mit SLE- Glomerulonephritis hatten vergleichbare Konzentrationen an Immunkomplexen im Serum wie SLE-Patienten ohne GN. Dies unterstützt die Hypothese (33,34), daß nicht zirkulierende Immunkomplexe sich in der Niere ablagern, sondern IC dort erst entstehen. Auch bei Nephritiden anderer Genese (idiopathische GN, GN bei Schistosomiasis) konnten keine erhöhten IC-Spiegel im Serum nachgewie-

sen werden (6, 12,48), obwohl in der glomerulären Basalmembran Immunkomplexe abgelagert waren.

Bisher wurden nur von wenigen Autoren Verlaufsstudien des SLE mit dem IC-Spiegel in Beziehung gesetzt. NYDEGGER (45) und THEOFILOPOULOS (54) sahen eine gute Korrelation des IC-Spiegels mit dem Krankheitsverlauf - allerdings jeweils nur bei einem Patienten. In HARKISS' Studie (28) wurden 4 Patienten vorgestellt, bei denen ein Zusammenhang zwischen dem Anstieg von IC im Serum und klinischer Exazerbation feststellbar war. Die absolute Höhe des IC-Spiegels schwankte jedoch um den Faktor 6 bei vergleichbarer klinischer Symptomatik. Ähnliches stellte ABRASS (1) fest, die aus diesem Grunde nur den Übergang des solid-phase C1q-binding-assays von IC-negativ zu IC-positiv wertete und die absolute Höhe unberücksichtigt ließ. Damit gelang in 82 % der Fälle eine korrekte Vorhersage eines SLE-Schubs; allerdings war ein Großteil der Patienten durchgehend IC-positiv, so daß für diese Gruppe keine prognostischen Schlüsse gezogen werden konnten.
In der vorliegenden Arbeit konnte kein Beweis für einen Zusammenhang zwischen Anstieg oder Absinken des Immunkomplexspiegels und der klinischen Aktivität erbracht werden. Zwar fanden sich in 11 von 20 Fällen gleichsinnige Veränderungen, doch waren ebensoviele Veränderungen des IC-Spiegels nicht von einer Verbesserung oder Verschlechterung der klinischen Symptomatik begleitet. Geeigneter erscheint zur Verlaufkontrolle die Bestimmung der BSG und der DNS-Antikörper, die keine falsch positiven Ergebnisse lieferte. Da die Veränderungen der Laborwerte im zeitlichen Ablauf nicht vor dem Beginn einer Aktivitätsänderung auftraten, war auch mit ihnen keine Voraussage möglich.

In dieser Studie wiesen pcP-Seren etwa genauso viel Immunkomplexe auf wie SLE-Seren; sowohl die Anzahl positiver Ergebnisse als auch die mittleren Prozentwerte waren vergleichbar. Nur der Komplementfaktor C3 präzipitierte in SLE-Seren in einem deutlich geringerem Prozentsatz als in pcP-Seren.

6. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit werden zirkulierende Immunkomplexe mittels Fällung mit Polyäthylenglykol und kinetischer Nephelometrie bestimmt. Im Vergleich zu einem Kollektiv gesunder Kontrollpersonen wird das Vorkommen von Immunkomplexen im Serum von Patienten mit primär chronischer Polyarthritis, systemischem Lupus erythematodes und verschiedenen Krankheiten des rheumatischen Formenkreises untersucht. In Teil I wird ein methodischer Vergleich zwischen radialer Immundiffusion und Nephelometrie durchgeführt. Für die Immunkomplexbestimmung im Serum wird anhand des Kontrollkollektivs ein Normalbereich aufgestellt. Die Ergebnisse bei Patienten mit chronischer Polyarthritis und anderen rheumatischen Erkrankungen werden diesem gegenübergestellt. Weiterhin wird die Beziehung zwischen dem Schweregrad der chronischen Polyarthritis und dem Immunkomplexspiegel geprüft und darüber hinaus der Einfluß des Rheumafaktors untersucht.

In Teil II werden die Serumkonzentrationen der Immunkomplexe von Patienten mit systemischem Lupus erythematodes bestimmt. Eine Querschnittsuntersuchung ermittelt die Beziehung zwischen Krankheitsaktivität und der Menge an zirkulierenden Immunkomplexen und vergleicht die Immunkomplexkonzentrationen von Patienten mit und ohne Lupus-Nephritis. In Längsstudien werden die Schwankungen der Immunkomplexkonzentrationen dem klinischen Krankheitsverlauf gegenübergestellt und die Aussagekraft der Immunkomplexbestimmung mit der anderer Laborparameter verglichen.

Es wurden dabei im wesentlichen folgende Ergebnisse erzielt:

1) Die durch radiale Immundiffusion und Nephelometrie gewonnenen Werte sind eng miteinander korreliert.
2) Über die Hälfte der untersuchten Patienten mit chronischer Polyarthritis weist IgG-haltige zirkulierende Immunkomplexe auf.
3) Die mittleren Immunkomplexkonzentrationen im Serum bei aktiver und inaktiver pcP unterscheiden sich nur geringfügig.

4) Das gleiche gilt für die Immunkomplexkonzentrationen bei seropositiver und seronegativer pcP.
5) Auch weitere Erkrankungen aus dem rheumatischen Formenkreis gehen zum Teil mit zirkulierenden Immunkomplexen einher.
6) Etwa die Hälfte der untersuchten Seren von Patienten mit systemischen Lupus erythematodes enthält Immunkomplexe, zum überwiegenden Teil IgG-haltige.
7) Es zeigen sich keine sicheren Unterschiede des Immunkomplexspiegels bei inaktivem, mäßig aktivem und aktivem SLE.
8) Zwischen Seren von Patienten mit und ohne Lupus-Nephritis bestehen weder quantitative noch qualitative Unterschiede im Bezug auf die bestimmten Immunkomplexe im Serum.
9) Die in dieser Arbeit beschriebene Methode zur Immunkomplexbestimmung scheint weder zur Verlaufskontrolle noch zur Voraussage von Schwankungen der SLE-Aktivität geeignet.

7. Tabellen

mg/100 ml	IgG	IgM	IgA	C3	C4
RID	1705	165	348	111	36
Neph	1319	142	328	105	22
r	0,88	0,82	0,93	0,91	0,85

Tab. 4 Übersicht über die Mittelwerte im Serum n = 20

mg/100 ml	IgG	IgM	IgA	C3	C4
RID	58,1	59,4	-	12,0	12,7
Neph	65,8	65,8	14,6	25,4	14,2
r	0,95	0,90	-	0,92	0,76

Tab. 5 Übersicht über die Mittelwerte im Präzipitat n = 20

	IgG	IgM	IgA	C3	C4
r	0,70	0,77	0,45	0,34	0,68

Tab. 6 Korrelation der Konzentrationen im Serum und Präzipitat n = 40

mg/100ml	IgG	IgM	IgA	C3	C4
x	916	130	180	112	26
s	195	79	64	27	8
N.B.	546-1286	0-288	52- 308	58-166	10-42

Tab.7 Mittelwerte und Normalbereiche im Serum von 40 gesunden Normalpersonen

mg/100ml	IgG	IgM	IgA	C3	C4
x	25,6	23,7	9,3	23,3	10,7
s	8,0	12,0	4,4	9,0	4,0
N.B.	9,6-41,6	0-47,7	0,5-18,1	5,3-41,3	2,7-18-7

Tab. 8 Mittelwerte und Normalbereiche im Präzipitat von 40 gesunden Normalpersonen

%	IgG	IgM	IgA	C3	C4
x	2,88	20,51	5,45	21,42	41,27
s	0,69	7,07	2,48	7,41	13,77
N.B.	1,70-4,06	6,37-34,65	0,5-10,42	6,6-36,24	13,73-68,81
Zahl pos. Ergebn.	2	1	2	3	4
in %	5	2,5	5	7,5	10

Tab. 9 Mittelwerte und Normalbereiche im Präzipitat bezogen auf die Serumkonzentration in Prozent n = 40

mg/100 ml	IgG	IgM	IgA	C3	C4
x/Serum	1275	142	305	171	37,2
s/Serum	491	61	172	79	15,0
x/Präz.	60,5	37,8	13,6	38,4	16,9
s/Präz.	26,8	20,2	5,9	17,9	4,2

Tab. 11 Ergebnisse in Serum und Präzipitat von pcP-Patienten n = 34

%	IgG	IgM	IgA	C3	C4
x	5,07	30,53	5,74	24,4	56,69
s	2,14	17,94	3,65	10,0	18,21
Zahl pos. Ergebn.	19	9	2	4	8
Zahl pos. Ergebn.(%)	55,88	26,47	5,86	11,76	23,52

Tab. 12 Mittlere Prozentwerte bei 34 Seren von pcP-Patienten und Anzahl der positiven Ergebnisse

mg/100ml		aktiv (n=22)	inaktiv (n=12)
IgG	x	1231	1324
	s	350	727
IgM	x	147	133
	s	62	63
IgA	x	306	360
	s	133	166
C3	x	164	181
	s	64	105
C4	x	38,9	33
	s	16	13

Tab.13 Mittelwerte im Serum bei aktiver und inaktiver pcP

mg/100ml		aktiv (n=22)	inaktiv (n=12)
IgG	x	66,8	49,0
	s	28,5	19,6
IgM	x	39,4	35,0
	s	21,9	8,0
IgA	x	15,0	11,3
	s	6,9	2,2
C3	x	39,0	39,8
	s	16,8	19,9
C4	x	17,3	16,0
	s	4,1	4,5

Tab. 14 Mittelwerte im Präzipitat bei aktiver und inaktiver pcP

%		aktiv (n=22)	inaktiv (n=12)
IgG	x	5,58	4,11
	s	2,41	1,21
IgM	x	31,19	29,53
	s	21,93	9,34
IgA	x	6,4	4,54
	s	4,38	1,62
C3	x	24,13	24,51
	s	10,33	11,52
C4	x	49,67	52,12
	s	19,12	17,48

Tab. 15 Prozentwerte bei aktiver und inaktiver pcP

mg/100ml		RF+ (n=17)	RF- (n=17)
IgG	x	1302	1249
	s	347	613
IgM	x	158	126
	s	73	44
IgA	x	376	216
	s	127	159
C3	x	163	176
	s	67	96
C4	x	34,3	40,1
	s	13,7	16,1

Tab.16 Mittelwerte im Serum bei RF+ und RF- pcP

mg/100ml		RF+ (n=17)	RF- (n=17)
IgG	x	73,0	47,9
	s	28,5	18,4
IgM	x	42,7	33,0
	s	24,1	7,3
IgA	x	16,8	10,5
	s	6,7	2,6
C3	x	33,4	45,2
	s	15,3	18,3
C4	x	16,6	17,1
	s	4,8	3,7

Tab.17 Mittelwerte im Präzipitat bei RF+ und RF- pcP

%		RF+ (n=17)	RF- (n=17)
IgG	x	5,85	4,29
	s	2,33	1,64
IgM	x	32,43	28,64
	s	23,76	9,59
IgA	x	4,61	6,88
	s	1,66	4,69
C3	x	21,13	27,6
	s	7,59	11,18
C4	x	53,01	48,38
	s	18,72	17,94

Tab.18 Prozentwerte bei RF+ und RF- pcP

mg/100 ml	IgG	IgM	IgA	C3	C4
$\bar{x}$/Serum	1149	160	236	99,7	19,2
s/Serum	478	101	113	44,0	14,4
$\bar{x}$/Präz.	42,9	36,8	9,9	14,7	8,4
s/Präz.	24,4	29,3	4,6	10,2	4,9

Tab.20 Ergebnisse in Serum und Präzipitat von 35 SLE-Patienten

%	IgG	IgM	IgA	C3	C4
x	3,93	25,20	4,85	15,0	43,2
s	1,60	14,80	2,51	8,0	14,82
Zahl d. pos. Ergebnisse	51/108	18/105	5/108	10/108	19/108
" in %	47,2	17,1	4,6	9,3	17,9

Tab.21 Mittlere Prozentwerte und Anzahl positiver Ergebnisse bei 35 SLE-Patienten

	SLE aktiv (n=11)	SLE mäßig akt. (n=50)	SLE inaktiv (n=43)
IgG i. Ser. (mg/100ml)	1418 ± 347	1040 ± 528	1188 ± 442
IgG/ %	4,55 ± 2,26	4,04 ± 1,62	3,64 ± 1,45
IgM i.Ser. (mg/100ml)	179 ± 93	164 ± 124	143 ± 66
IgM / %	32,82 ±16,59	26,67 ± 14,08	20,83 ± 7,02
IgA i.Ser. (mg/100ml)	228 ± 57	245 ± 101	226 ± 13[illegible]
IgA / %	5,94 ±2,73	4,59 ± 2,36	4,81 ± 2,6[illegible]
C3 i.Serum (mg/100ml)	87 ± 34	102 ± 45	94 ± 39
C3 / %	17,24 ±12,13	15,36 ± 7,83	13,51 ± 6,10
C4 i.Serum (mg/100ml)	13,8 ± 7,7	20,8 ± 17,3	16,1 ± 7,5
C4 / %	59,02 ±31,49	49,77 ± 20,15	44,96 ± 19,48

Tab. 22 Mittelwerte in Serum und Prozentbereich bei unterschiedlicher SLE-Aktivität

%		mit Nephritis	ohne Nephritis
IgG	x	3,90	3,94
	s	1,41	1,74
IgM	x	24,76	24,88
	s	13,04	12,06
IgA	x	4,46	5,14
	s	1,79	2,91
C3	x	14,58	15,17
	s	7,25	8,16
C4	x	48,11	49,46
	s	16,71	25,30

Tab. 23 Mittlere Prozentwerte bei Patienten mit und ohne SLE-Nephritis

8. Literaturverzeichnis

1) Abrass, C. K., Nies, K. M., Louie, J. S., Warder, W. A., Glassock, R. J.
Correlation and Predictive Accuracy of CIC with disease activity in patients with SLE
Art. Rheum. 23, 273-282 (1980)

2) Agnello, V., Winchester, R. J., Kunkel, H. G.
Precipitin reactions of the C1q Component of Complement with aggregated gamma-globulins and IC in gel diffusion
Immunol. 19, 909-919 (1970)

3) Albertsson, P.-A.
Antigen-antibody in liquid two-phase systems: a method for studying immunological reactions
Nature 185, 38-40 (1960)

4) Barnett, V., Chia, D.
Quantitation of IgG in serum and IC isolated in 4 % PEG
Ann. Rheum. 36, 126 (1977)

5) Barratt, J., Naish, P.
A simple radiolabelled RF binding assay for the measurement of CIC
J. Immunol. Methods 25, 137-146 (1979)

6) Bout, D., Santoro, F., Carlier, Y., Bina, J. C., Capron, A.
CIC in schistosomiasis
Immunol. 33, 17-22 (1977)

7) Brouet, J. C., Clauvel, J. P., Danon, F., Klein, M., Seligmann, M.
Biological and clinical significance of cryoglobulins
Am. Journ. Med. 57, 775-788 (1977)

8) Casali, P., Bossus, A., Carpentier, N. A., Lambert, P. H.
Solid-phase enzyme immunoassay or RIA for the detection of IC based on the recognition by conglutinin: conglutinin binding assay. A comparative study with ^{125}I-labelled C1q binding assay and Raji cell assay
Clin. Exp. Immunol. 29, 342-354 (1977)

9) Chesebro, B., Svehag, S.-E.
Precipitation of human serum proteins by PEG
Clin. Chim. Acta 20, 527-529 (1968)

10) Chia, D., Barnett, E. V., Jamagata, J., Knutson, D., Restivo, C., Furst, D.
Quantitation and characterization of soluble IC precipitated from sera by PEG
Clin. Exp. Immunol. 37, 399-407 (1979)

11) Cochrane, C. G., Koffler, D.
Immune complex disease in experimental animals and man
Advanc. in Immunol. 16, 185-264 (1973)

12) Cohen, S. A., Reynolds, W. E., Franklin, E. C., Kulka, J. P., Ropes, M. W., Shulman, L. E., Wallace, S. L.
Preliminary criteria for the classification of systemic lupus erythematosus
Bull. Rheum. Dis. 21, 643-648 (1971)

13) Cream, J. J.
IC in cryoprecipitates
Ann. Rheum. Dis. 36, Suppl. 1, 45 (1977)

14) Creighton, W. D., Lambert, P. H., Miescher, P. H.
Detection of antibodies and soluble antigen-antibody complexes by precipitation with PEG
J. Immunol. 111, 1219-1227 (1973)

15) Digeon, M., Laver, M., Riza, J., Bach, J. F.
Detection of CIC in human sera by a simplified assay with PEG
J. Immunol. Med. 16, 165-183 (1977)

16) Dixon, F. J., Feldmann, J. D., Vazques, J.J.,
Exp. glomerular nephritis: The pathogenesis of a laboratory model resembling the spectrum of human glomerulonephritis
J. Exp. Med. 113, 899-919 (1961)

17) Dixon, F. J.,
The role of antigen-antibody complexes in disease
Harvey Lect. 8, 21-52 (1963)

18) Dixon, F. J.
Pathogenesis of Immunological disease
J. Immunol. 109, 147 (1972)

19) Dixon, F.J.
Immune complex diseases
J. Invest. Dermatol. 59, 413-415 (1973)

20) Eisenberg, R. A., Theofilopoulos, A. N., Dixon, F. J.
Use of bovine conglutinin for the assay of IC
J. Immunol. 118, 1428-1432 (1977)

21) Farr, R. S.
A quantitative immunochemical measure of the primary interaction between BSA and antibody
J. of infectious diseases 103, 239-262 (1958)

22) Franklin, E. C., Holman, H. R., Müller-Eberhard, H. J., Kunkel, H. G.
An unusual protein component of high molecular weight in the serum of certain patients with rheumatoid arthritis
J. Exp. Med. 105, 425-428 (1957)

23) Gabriel, A. jr., Agnello, V.
Detection of IC. The use of radioimmunoassays with C1q and monoclonal rheumatoid factor
J. Clin. Invest. 59, 990-1001 (1977)

24) Ginsberg, B., Keiser, H.
A millipore filter assay for antibodies to native DNA in sera of patients with SLE
Arthr. Rheum. 16, 199-207 (1973)

25) Haakenstad, A. O., Mannik, M.
Saturation of the reticuloendothelial system with soluble IC
J. Immunol. 112, 1939-1948 (1974)

26) Hällgren, R., Wide, L.
Detection of circulating IgG aggregates and IC using ^{125}I-labelled protein A from staphylococcus aureus
Ann. Rheum. Dis. 35, 306-312 (1976)

27) Harkiss, E. D., Brown, D. L.
Detection of IC by a new assay, the PEG precipitation complement consumption test (PEG'CC)
Clin. Exp. Immunol. 36, 117-129 (1978)

28) Harkiss, E. D., Hazleman, B. L., Brown, D. L.
A longitudinal study of CIC, DNA-antibodies and complement in patients with SLE: Analysis of their relation-

ship to disease activity
J. Clin. Lab. Immunol. 2, 275-283 (1979)

29) Harrington, J. C., Fenton, J. W., Pert, J. H.
Polymer-induced precipitation of antigen-antibody complexes: Preciplex reactions
Immunochemistry 8, 413-421 (1971)

30) Hay, F. C., Nineham, L. J., Roitt, I. M.
Routine assay for the detection of IC of known immunoglobulin class, using solid phase C1q
Clin. Exp. Immunol. 24, 396-400 (1976)

31) Hellsing, K.
Immune reactions in polysaccharide media. The effect of dextran on the reaction between ^{125}I-labelled human serum albumin and IgG from rabbit anti-albumin sera
Acta Chem. Scand. 20, 1251-1262 (1966)

32) Iverius, P. H., Laurent, T. C.
Precipitation of some plasma proteins by the addition of Dextran or PEG
Biochim. Biophys. Acta 133, 371 (1967)

33) Izui, S., Lambert, P.-H., Miescher, P. A.
In vitro demonstration of a particular affinity of glomerular basement membrane and collagen for DNA. A possible basis for a local formation of DNA-anti-DNA complexes in SLE
J. Exp. Med. 144, 428-443 (1976)

34) Izui. S., Lambert, P.-H., Fournie, G. J., Türler, H., Miescher, P. A.
Features of SLE in mice injected with bacterial lipopolysaccharides. Identification of circulating DNA and renal localization of DNA-anti-DNA complexes
J. Exp. Med. 145, 1115-1130 (1977)

35) Kalden, J. R., Zimmer, I., Deicher, H.
Die Bedeutung von Serum-Antikörpern gegen ds-DNS für die Diagnostik und den klinischen Verlauf von Patienten mit einem systemischen Lupus erythematodes
Inn. Med. 3, 5-12 (1976)

36) Killingsworth, S.
Nephelometric studies of the precipitin reaction: A model system for spectrophotometer protein measurement
Clin. Chem. 19, 403 (1973)

37) Koffler, D., Agnello, V., Thoburn, R., Kunkel, H. G.
SLE: Prototype of immune complex nephritis in man
J. Exp. Med. 134, 169s-179s (1971)

38) Kredich, N. M., Skyler, J. S., Foote, M. J.
Antibodies to native DNA in SLE
Arch. Intern. Med. 131, 639-644 (1973)

39) Kunkel, H. G., Müller-Eberhard, H. J., Fudenberg, H. H., Tomasi, T. B.
Gammaglobulin complexes in rheumatoid arthritis and certain other conditions
J. Clin. Invest. 40, 117-129 (1961)

40) Lambert, P.-H., Bricteux, N., Salmon, J., Miescher, P. A.
Dynamics of immune complex nephritis during antibody excess
Int. Archs Allergy appl. Immun. 45, 185-189 (1973)

41) Laurent, T. C.
The interaction between polysaccharides and other macromolecules. The solubility of proteins in the presence of dextran
Biochim. J. 89, 253 (1963)

41) Lawley, T. J., James, S. P., Jones, E. A.
CIC: Their detection and potential significance in some hepatobiliary and intestinal diseases
Gastroenterol. 78, 626-641 (1980)

42) Mannik, M., Arend, W. P.
Fate of preformed immune complexes in rabbits and rhesus monkeys
J. Exp. Med. 134, 19s-31s (1971)

43) McCarty, D. J.,
Arthritis and allied conditions
Philadelphia 1979

44) Myllylä, G.
Aggregation of human blood platelets by IC in the sedimentation pattern test
Scand. J. Haematol. Suppl. 19 (1973)

45) Nydegger, U. E., Lambert, P.-H., Gerber, H., Miescher, P. A.
CIC in the serum in SLE and in carriers of hepatitis B antigen.
J. Clin. Invest. 54, 297-309 (1974)

46) Nydegger, U. E., Zubler, R. H., Gabay, R., Joliat, G., Karagevrekis, C., Lambert, P.-H., Miescher, P. A.
Circulating complement breakdown products in patients with rheumatoid arthritis. Correlation with plasma C3d, CIC and clinical activity
J. Clin. Invest. 59, 862-868 (1977)

47) Pirquet, C. F. von, Schick, B.
Die Serumkrankheit
Deuticke, Leipzig (1905)

48) Polson, A., Potgieter, G. H., Largier, J. F., Mears, G. E. F., Jombert, F. J.
The fractionation of protein mixtures by linear polymers of high molecular weight
Biochim. Biophys. Acta 82, 463-475 (1964)

49) Riha, I., Haskova, V., Kaslik, J., Maierowa, M., Stranski, J.
The use of PEG for immune complex detection in human sera
J. Immunol. 16, 489-493 (1978)

50) Roitt, I. M.
Immunologie
Darmstadt, Steinkopff (1977)

51) Sachs, L.
Angewandte Statistik, 4. Auflage (1974)

52) Sobel, A.T., Bokisch, V. A., Müller-Eberhard, H. J.
C1q-deviation-test for the detection of IC, aggregates of IgG and bacterial products in human sera
J. Exp. Med. 142, 139-150 (1975)

53) Sternberg, J. C.
A rate nephelometer for measuring specific proteins by immune precipitin reactions
Clin. Chem. 23, 1456 (1977)

54) Theofilopoulos, A. M., Wilson, C. B., Dixon, F. J.
The raji cell radioimmune assay for detecting immune complexes in human sera
J. Clin. Invest. 57, 169-182 (1976)

55) Träxler, G.
Kinetische Nephelometrie - Eine neue Routinemethode zur Bestimmung von Proteinen in der klinischen Chemie
Medizintechnik 3, 79-84 (1979)

56) Tron, F., Bach, J. F.
Tests immunologiques pour le diagnostic et le pronostic du lupus erythemateux dissemine avant le treitement
La Nouvelle Presse Medicale 6, 2573-2578 (1977)

57) Wadsworth, C.
Human serum standards and sera from patients with IC disease characterized with regard to immunoglobulins G, A and M (Abstr.)
Scand. J. Immunol. 6, 761 (1977)

58) Wager, O., Penttinen, K., Räsänen, J. A., Myllylä, G.
Inhibition of IgG complex-induced platelet aggregation by antiglobulin-active cryoglobulin IgM components
Clin. Exp. Immunol. 15, 393-408 (1973)

59) Winchester, R. J., Kunkel, H. G., Agnello, V.
Occurence of gammaglobulin complexes in serum and joint fluid of rheumatoid arthritis patients: Use of monoclonal RF as reagents for their demonstration
J. Exp. Med. 134, 286-295 (1971)

60) Zeppezauer, M., Brishammar, S.
Protein precipitation by uncharged water-soluble polymers
Biochim. Biophys. Acta 82, 463 (1965)

61) Zubler, R. H., Nydegger, U. E., Perrin, L. H., Fehr, K., McCormick, C. K. J., Lambert, P.-H., Miescher, P. A.
Circulating and intra-articular IC in patients with rheumatoid arthritis. Correlation of ^{125}I-C1q binding activity with clinical and biological features of the disease
J. Clin. Invest. 57, 1308-1319 (1976)

62) Zubler, R. H., Perrin, L. H., Creighton, W. D., Lambert, P.-H.
Use of PEG to concentrate IC from serum or plasma samples
Ann. Rheum. Dis. 36 Suppl. 1, 23 (1977)

63) Zubler, R. H., Lambert, P.-H.
Detection of IC in human diseases
Prog. Allergy 24, 1-48 (1978)

64) Zubler, R. H., Lambert, P.-H.
^{125}I-C1q binding test for soluble immune complexes
Ann. Rheum. Dis. 36 Suppl. 1, 27 (1977)

Lebenslauf

Am 1. Juli 1957 wurde ich als Tochter des Vorsitzenden Richters am Landgericht Josef Perseke und seiner Frau Rosemarie, geb. Florian in Frankfurt am Main geboren. Ostern 1964 wurde ich in die Wittelsbacher Schule in Frankfurt eingeschult. Vom Sommer 1967 bis Mai 1976 besuchte ich die Herderschule, ein neusprachliches Gymnasium. Am 24.5.1976 bestand ich dort das Abitur. Seit Oktober 1976 studiere ich Medizin an der Universität in Frankfurt. Die ärztliche Vorprüfung legte ich im August 1978, den ersten Abschnitt der ärztlichen Prüfung im August 1979 ab. Seit dem 7.7.1981 bin ich mit Bernhard Steffens verheiratet. Den zweiten Abschnitt der ärztlichen Prüfung bestand ich im März 1982, seit April 1982 bin ich Studentin im Praktischen Jahr im St. Marienkrankenhaus.

Susanne Steffens

Lebenslauf

Am 29.1.1958 wurde ich in Frankfurt als Tochter des Drogisten Franz Weber und seiner Frau Wilma geboren. Von 1964 bis 1967 besuchte ich die Grundschule in Schwalbach am Taunus, anschließend das Altkönig-Gymnasium in Kronberg. Nach der Reifeprüfung im Frühjahr 1976 nahm ich im Wintersemester 1976/77 an der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt das Medizinstudium auf. Im August 1978 legte ich die Ärztliche Vorprüfung ab, im August 1979 den ersten und im März 1982 den zweiten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung. Zur Zeit bin ich Studentin im Praktischen Jahr am St. Marienkrankenhaus in Frankfurt.

Marion Weber

Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die dem Fachbereich Humanmedizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel:
Bestimmung zirkulierender Immunkomplexe bei Patienten mit primär chronischer Polyarthritis und systemischem Lupus erythematodes
Teil I : Untersuchung an Patienten mit primär chronischer Polyarthritis
im Zentrum der Inneren Medizin, Abteilung für physikalisch-diätetische Therapie
unter Leitung von: Prof. Dr. med. K. Pirlet
mit Unterstützung durch: Dr. med. H. Krippner und Dr. med. S. Merle
ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keinem in- und ausländischen Medizinischen Fachbereich ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Frankfurt am Main, den 1. 12. 1982

Susanne Steffens

Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die dem Fachbereich Humanmedizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel:
Bestimmung zirkulierender Immunkomplexe bei Patienten mit primär chronischer Polyarthritis und systemischem Lupus erythematodes
Teil II: Untersuchung an Patienten mit systemischem Lupus erythematodes
im Zentrum der Inneren Medizin, Abteilung für physikalisch-diätetische Therapie
unter Leitung von: Prof. Dr. med. K. Pirlet
mit Unterstützung durch: Dr. med. H. Krippner und
Dr. med. S. Merle
ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keinem in- und ausländischen Medizinischen Fachbereich ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Frankfurt am Main, den 1.12.1982

Marion Weber

KOCZY-DRUCK, Oppenheimer Landstr. 29, 6 Ffm. 70, Tel. 62 21 91